

POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT HIJAU (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* (*Cacar Unggas*) PADA TELUR AYAM BEREMBRIO (TAB) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN JUMLAH *INCLUSION BODIES* PADA TRAKEA

SKRIPSI

Oleh :

ISBIYA WHINONA

145130101111012



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT HIJAU (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* (Cacar Unggas) PADA TELUR AYAM BEREMBRIO (TAB) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN JUMLAH *INCLUSION BODIES* PADA TRAKEA

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

ISBIYA WHINONA

145130101111012



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT HIJAU (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* (Cacar unggas) PADA TELUR AYAM BEREMBRIO (TAB) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN JUMLAH *INCLUSION BODIES* PADA TRAKEA

Oleh:

ISBIYA WHINONA
NIM. 145130101111012

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 27 Juli 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I


Dr. Sri Murwani, drh., MP
NIP. 19630101 198903 2 001

Pembimbing II


drh. Ajeng Erika PH, M. Si
NIP. 19890516 201504 2 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Zulanni'am, drh., DES
NIP. 19500903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Isbiya Whinona

Nim : 145130101111012

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

**POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT HIJAU (*Caulerpa racemosa*)
SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* (Cacar Unggas) PADA TELUR AYAM
BEREMBRIO (TAB) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN
JUMLAH *INCLUSION BODIES* PADA TRAKEA**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang ada.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 30 Juli 2018

Yang menyatakan,



Isbiya Whinona
NIM.145130101111012

**POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT HIJAU (*Caulerpa racemosa*)
SEBAGAI PREVENTIF *FOWL POX* (Cacar Unggas) PADA TELUR
AYAM BEREMBRIO (TAB) TERHADAP HISTOPATOLOGI
DAN JUMLAH *INCLUSION BODIES* PADA TRAKEA**

ABSTRAK

Fowl pox merupakan salah satu penyakit pada unggas yang banyak ditemukan dilapang, namun belum banyak dilaporkan oleh peternak, sehingga dibutuhkan preventif dari bahan alam untuk mencegah virus pox. Anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dipercaya dapat menghambat virus karena memiliki aktivitas antivirus, antioksidan dan antiinflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) pada Telur Ayam Berembrio (TAB) yang diinfeksi oleh virus pox terhadap gambaran histopatologi trakea dan jumlah *inclusion bodies*. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Telur Ayam Berembrio (TAB) yang digunakan berumur 9-11 hari, dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol positif adalah kelompok yang diinokulasi dengan virus pox 0,2 mL/butir dengan konsentrasi 10%. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok tidak diberi perlakuan apapun. Kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 merupakan kelompok yang diberi preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) volume 0,03 mL/butir, 0,05 mL/butir, 0,07 mL/butir dengan konsentrasi 100% kemudian dilakukan inokulasi virus pox dengan volume 0,2 mL/butir. Parameter yang diukur adalah gambaran histopatologi trakea dan jumlah *inclusion bodies*. Perubahan gambaran histopatologi trakea dengan menggunakan pewarnaan Hematoksilen Eosin (HE) dan dianalisa secara kualitatif serta dilihat *inclusion bodies* yang dianalisa menggunakan *one way* ANOVA ($\alpha=0,05$) dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0,03 mL/butir pada telur ayam berembrio dapat mencegah infeksi virus pox berdasarkan histopatologi dan jumlah *inclusion bodies* pada trakea. Kesimpulan dari analisa penelitian bahwa anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) memiliki efek preventif terhadap virus pox .

Kata kunci : *Fowl pox*, TAB, Anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*), *Inclusion bodies*, Histopatologi, Trakea

**POTENTIAL OF GREEN SEA GRAPE (*Caulerpa racemosa*) AS AN
ACTION TO PREVENT FOWL POX VIRUS ON CHICKEN EGGS
EMBRYO BASED ON HISTOPATOLOGY AND
AMOUNT OF INCLUSION BODIES
ON TRACHEA**

ABSTRACT

Fowl Pox is one of diseases in poultry that found in field but has not been widely reported, so it needs preventive method from natural materials to inhibit viral replication because it has antiviral, antioxidant and antiinflammation activity. The aim of this research is to know the effect of preventive of green sea grape (*Caulerpa racemosa*) extract on Embryonic Chickens Eggs infected by pox virus based on histopathology of trachea and amount of inclusion bodies. This research was an experimental using a complete randomized design. Embryonic Chicken Eggs as medium for pox viruses that used is 9-11 days old divided into 5 groups. The positive control group was the inoculated group with the 0,2 mL pox virus with 10% concentration. The negative control group is a group that was not given any treatment. The preventive group of 1, 2 and 3 were the group that given the preventive extract of green sea grape (*Caulerpa racemosa*) with volume 0,03 mL/egg, 0,05 mL/egg, 0,07 mL/egg in 100% concentration and then inoculated of pox virus with volume 0,2 mL/egg. The parameters measured were histopathology and the amount of inclusion bodies in tracheal. Tracheal microscopic changes was observed histopathologically with Hematoxyline Eosin (HE) staining and analyzed qualitatively and the amount of inclusion bodies was analyzed by using one way ANOVA ($\alpha=0,05$), followed by Tukey test. The results showed that the volume 0,03 mL/egg of green sea grape extract (*Caulerpa racemosa*) was effective to prevent the infection of pox virus in embryonic chicken egg based on histopathology description and the amount of inclusion bodies. The conclusion of this analysis is green sea grape (*Caulerpa racemosa*) could be used as the preventif of pox virus.

Keywords : Fowl pox, Chicken Eggs Embryo, Green sea grape (*Caulerpa racemosa*), Inclusion bodies, Histopathology, Tracheal

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Potensi Ekstrak Anggur Laut Hijau (*Caulerpa Racemosa*) Sebagai Preventif Fowl Pox (Cacar Unggas) Pada Telur Ayam Berembrio (TAB) Terhadap Gambaran Histopatologi Dan Jumlah *Inclusion Bodies* Pada Trakea ”.**

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis mengalami berbagai macam halangan dan rintangan, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Dr. Sri Murwani drh, MP., selaku dosen pembimbing I dan., drh. Ajeng Erika PH, M.Si., selaku pembimbing II yang telah mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, kritik, saran, dan waktu, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. drh. Fidi Nur Aini, M.Si., selaku dosen penguji I dan drh. M. Arfan Lesmana, M. Sc., selaku dosen penguji II yang telah memberikan kritik, saran, waktu, dan masukan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB)
4. Ibunda Herni Tuti, Ayahanda Abdurrahman, SP., Kakak Panji Rugeri A.Md., mbak Lici Andrevia, Adik Carina, dan Adik Hatta serta seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan moril serta materil.
5. Bayu Wira Jaya, Athifah Royani, Dyah Ayu Puspitasari, Risa Dwi Dessriyanti, dan Fitrah Aulia serta rekan-rekan A'maze dan teman seangkatan 2014 (AVENGERS) yang selalu mendongkrak semangat penulis untuk menyelesaikan laporan skripsi ini dengan baik.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah disisi-Nya, Amin.

Malang, 30 Juli 2018



Isbiya Whinona
NIM. 14513010112

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	x
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Fowl pox	6
2.1.1 Etiologi	6
2.1.2 Epidemiologi.....	7
2.1.3 Gejala Klinis	7
2.1.4 Patogenesis.....	9
2.1.5 Transmisi.....	9
2.1.6 Patologi Anatomi.....	10
2.1.7 Diagnosa	10
2.1.8 Pencegahan	11
2.2 Anggur laut (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	11
2.3 Telur Ayam Berembrio (TAB)	13
2.3.1 Imunitas Pada Embrio Ayam.....	14
2.4 <i>Inclusion Bodies</i>	16
2.4 Trakea	16

BAB 3. METODE KEGIATAN	18
3.1 Kerangka Konsep.....	18
3.2 Hipotesa Penelitian	20
BAB 4. PELAKSANAAN KEGIATAN	21
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
4.2 Alat dan Bahan	21
4.3 Tahapan Penelitian.....	22
4.4 Rancangan Penelitian.....	22
4.5 Variabel Penelitian	24
4.6 Prosedur Kerja	24
4.6.1 Persiapan Telur Ayam Berembrio (TAB).....	24
4.6.2 Pembuatan Ekstrak Anggur laut hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	24
4.6.3 Pembuatan Isolat Virus Pox	25
4.6.4 Proses Inokulasi.....	25
4.6.5 Pengambilan Trakea	26
4.6.6 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Trakea.....	27
4.7 Analisa Data	28
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
5.1 Identifikasi Virus Pox Dari Isolat Lapang	29
5.2 Pemilihan Dosis Anggur Laut Hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>) Dan Isolat Lapang Yang Digunakan	30
5.3 Makroskopis Embrio Ayam Bertunas	31
5.4 Efek Preventif Anggur Laut Hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>) Pada Telur Ayam Berembrio (TAB) Yang Diinfeksi Oleh Virus Pox Terhadap Gambaran Histopatologi Trakea.....	32
5.5 Efek Preventif Anggur Laut Hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>) Pada Telur Ayam Berembrio (TAB) Yang Diinfeksi Oleh Virus Pox Terhadap Jumlah <i>Inclusion Bodies</i>	40

BAB 6. PENUTUP	44
6.1 Kesimpulan	44
6.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	47



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Kelompok Perlakuan	25
5.1 Rata-Rata Jumlah <i>Inclusion Bodies</i> Pada Perbesaran Mikroskopis 400x	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Virus Pox.....	7
2.2 Bentuk Cutaneus	8
2.3 Bentuk Diptherik	10
2.4 Tanaman Anggur Laut Hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>)	13
2.5 <i>Inclusion Bodies</i>	16
2.6 Sistem Pernafasan Unggas Bagian Trakea	17
5.1 Makroskopis CAM dan Histopatologi CAM	29
5.2 Gejala Klinis isolat lapang	30
5.3 Makroskopis Embrio Ayam Bertunas	32
5.4 Kelompok K(-) Dengan Metode Pewarnaan HE	34
5.5 Kelompok K(+) Dengan Metode Pewarnaan HE.....	35
5.6 Kelompok P1 Dengan Metode Pewarnaan HE	37
5.7 Kelompok P2 Dengan Metode Pewarnaan HE	38
5.8 Kelompok P3 Dengan Metode Pewarnaan HE	39
5.9 Histopatologi diberbagai perlakuan	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Keterangan Laik Etik.....	48
2. Kerangka Operasional Penelitian.....	49
3. Prosedur Pembuatan Ekstrak Anggur Laut Hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	50
4. Pembuatan Isolat Pox.....	51
5. Pembuatan Preparat Histopatologi Trakea.....	52
6. Dokumentasi Kegiatan	53
7. Hasil Uji SPSS	56



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
%	: Persen
°C	: Derajat Celcius
CAM	: <i>Chorioalantoic membrane</i>
CARD	: <i>Caspase Recruitment Domain</i>
cm	: Centimeter
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
H	: Hidrogen
kg	: kilogram
MALT	: <i>Mucosal Associated Lymphoid Tissue</i>
mL	: Mililiter
mm	: Milimeter
NK	: <i>Natural Killer</i>
O ₂	: Oksigen
PBS	: <i>Phospat Buffered Saline</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
SPF	: <i>Spesific Pathogen Free</i>
TAB	: Telur Ayam Berembrio
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
UV	: Ultraviolet

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fowl pox merupakan penyakit cacar yang menyerang unggas, dimana tingkat kejadian penyakit di Indonesia telah banyak menyebar dan menyebabkan kerugian ekonomi terkhusus untuk peternak unggas, adapun tingkat morbiditas pada unggas menurut Kemenpet (2014) sebesar 80-100%, salah satu cara yang dapat diambil, yaitu dengan melakukan tindakan pencegahan. Virus pox dapat mengakibatkan penurunan produksi telur pada unggas serta menurunkan sistem ketahanan tubuh unggas. Virus pox ditandai dengan ada lesi pada pial, jengger, kaki, dan bagian tubuh unggas yang tidak di tumbuhi oleh bulu hingga menyerang saluran pernafasan atas. Virus pox yang terjadi pada TAB dapat ditandai dengan muncul *plaque* berwarna putih pada membrane chorioalantois (Roy, 2013)

Terjadi infeksi virus pox pada telur ayam berembrio (TAB) diawali dengan virus masuk melalui membran chorioalantois dan diserap oleh *inner membrane* telur menuju embrio. Virus pox dapat menyerang sistem pernafasan atas maka dapat mengganggu sistem sirkulasi, terkhusus trakea. Virus pox dapat menyebabkan perubahan gambaran mikroskopis pada trakea yang ditengarai akibat infeksi. Oleh sebab, itu infeksi ini diharapkan dapat dicegah dengan pemberian anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sehingga pengamatan secara histopatologi akan memberikan gambaran dalam mengidentifikasi pengaruh pemberian anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*)

terhadap gambaran mikroskopis trakea telur ayam berembrio (TAB) yang diinfeksi virus pox (Roy, 2013)

Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) adalah salah satu rumput laut yang tumbuh secara alami di perairan Indonesia. Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) ditemukan tumbuh pada substrat koral atau pada substrat pasir-pecahan karang. Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) bersifat *edible* (dapat dikonsumsi oleh manusia). Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) dapat menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, serta antimikroorganisme. Kemampuan anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dalam menangkal radikal bebas karena mengandung klorofil, fenolik, karotenoid dan sterol. Hasil analisis komposisi kimia dari anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) menunjukkan bahwa anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki kadar air dan klorofil yang cukup tinggi (Widodo, 2013)

Akhir-akhir ini berkembang cara baru untuk pencegahan penyakit, yaitu dengan memanfaatkan bahan alami. Bahan yang mampu meningkatkan ketahanan tubuh atau meningkatkan respon imun dikenal dengan nama *imunostimulator* (Tizard, 2000). Salah satu *imunostimulator* yang berasal dari bahan nabati atau bahan herbal, yaitu anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*). Hingga saat ini populasi anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) di perairan laut Indonesia masih melimpah dan belum dimanfaatkan secara optimal baik untuk pemenuhan gizi masyarakat setempat maupun untuk tujuan medis secara umum. Penelitian ini diharapkan mampu mengoptimalkan fungsi dari anggur

laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dan membuktikan apakah ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) ini memiliki potensi sebagai antimikroorganisme termasuk antivirus dengan melisiskan virus yang akan masuk kedalam TAB sehingga tidak dapat membentuk *inclusion bodies*.

Inclusion bodies merupakan struktur spesifik virus yang terbentuk akibat multifikasi virus pada TAB yang ditandai dengan muncul plaque (lesi) pada CAM. *Inclusion bodies* memiliki afinitas terhadap pewarnaan asam, pada pewarnaan HE *inclusion bodies* ini bersifat eosinofilik yang terdapat diintrasisitoplasmik.

Berdasarkan uraian di atas penulis ingin mengkaji secara lebih mendalam tentang preventif terhadap *fowl pox* menggunakan senyawa antimikroorganisme salah satunya antivirus yang terkandung didalam anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) yang akan dievaluasi dengan gambaran histopatologi trakea serta menghitung jumlah *inclusion bodies*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penulisan skripsi ini adalah :

1. Apakah ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dapat mencegah perubahan histopatologi trakea pada TAB yang diinokulasi virus pox dilihat berdasarkan gambaran histopatologi trakea ?
2. Apakah ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dapat mencegah kerusakan trakea yang dilihat berdasarkan jumlah *inclusion bodies* pada TAB yang diinokulasikan oleh virus pox?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian skripsi ini adalah :

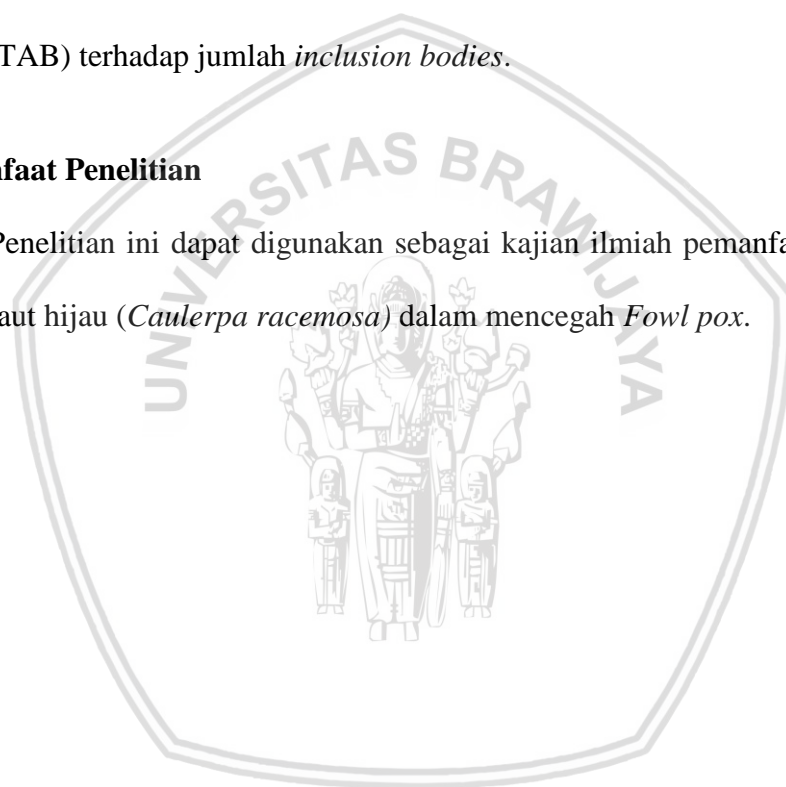
- 1) Hewan model yang digunakan adalah TAB *Spesific Pathogen Free* (SPF) yang berumur 9-11 hari berasal dari salah satu peternak di kota Mojokerto, Jawa timur (Roy, 2013) dan telah mendapatkan sertifikat laik etik dengan No : 764-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya
(Lampiran 1)
- 2) Virus pox didapatkan dari isolat lapang berupa ayam layer yang terinfeksi virus pox disalah satu peternak ayam di kota Blitar dengan gejala klinis yang terlihat berupa lesi pada pial dan jengger (Sawale, 2012)
- 3) Ektrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) didapatkan dari salah satu perairan laut jepara yang terletak di pesisir laut utara, Jawa tengah (Ma'ruf, 2013)
- 4) Pemberian ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dilakukan secara in vivo dengan volume berbeda yaitu 0,03 mL/ butir, 0,05 mL/butir, dan 0,07 mL/butir dengan konsentrasi 100% dalam 1 kali perlakuan dan diinokulasikan virus pox 0,2 mL/butir dengan konsentrasi 10% setelah 24 jam ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) masuk (Ma'ruf, 2013)
- 5) Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi organ trakea dengan metode pewarnaan HE secara kualitatif dan jumlah *inclusion bodies* dengan uji one way ANOVA (Unitly, 2010).

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebagai tindakan preventif *fowl pox* (cacar unggas) pada telur ayam berembrio (TAB) terhadap histopatologi trakea.
2. Mengetahui potensi ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebagai tindakan preventif *fowl pox* (cacar unggas) pada telur ayam berembrio (TAB) terhadap jumlah *inclusion bodies*.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pemanfaatan ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dalam mencegah *Fowl pox*.



BAB 2

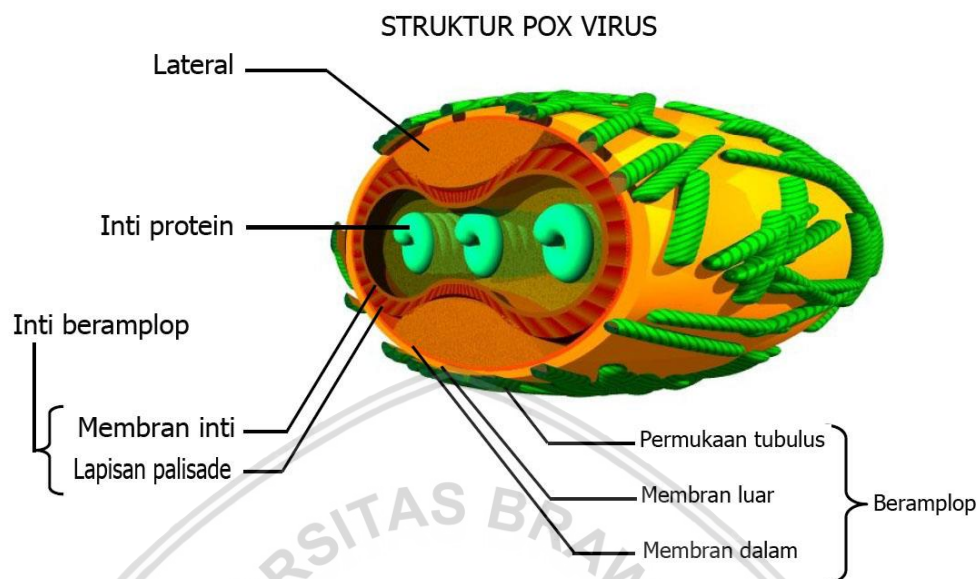
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Fowl Pox*

Cacar pada unggas merupakan penyakit viral yang dapat menyerang bangsa unggas. Terdapat beberapa sebutan untuk penyakit ini, yaitu *fowl pox*, *avian pox*, *soregeat*, dan *avian diptheria*. Penyakit pada ternak secara umum dibagi menjadi penyakit infeksius dan non infeksius. Penyakit infeksius merupakan penyakit yang disebabkan oleh agen-agen infeksi. Adapun agen-agen infeksi penyebab penyakit antara lain virus, bakteri, mikal, serta parasit. Penyakit non infeksius merupakan penyakit yang disebabkan tanpa melalui agen infeksi, yaitu akibat defisiensi nutrisi, vitamin, mineral, serta keracunan pakan (Atkinson, 2005).

2.1.1 Etiologi

Virus pox merupakan virus DNA *double-stranded*. Virus pox memiliki ukuran paling besar diantara virus yang lain dan dapat diamati menggunakan mikroskop cahaya, namun struktur virion kurang jelas. Menggunakan mikroskop elektron beresolusi tinggi, virion virus pox terlihat memiliki struktur oval. Virion terdiri dari nukleoprotein yang dikelilingi oleh membran. Membran tersebut dapat menginfeksi sesuai dengan *strain* tertentu, baik secara *in vivo* maupun secara *in vitro*. Virion tersebut memiliki komposisi kimia tambahan yaitu lipid bilayer yang disebut envelope (Atkinson, 2004). Adapun struktur dari virus pox seperti pada **Gambar 2.1** berikut ini:



Gambar 2.1 Struktur Virus Pox (Atkinson, 2005)

2.1.2 Epidemiologi

Virus pox telah tersebar diseluruh penjuru dunia, salah satunya di Indonesia dan dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi pada peternak unggas, tingkat morbiditas penyakit *fowl pox* di Indonesia saat ini mencapai 80-100% (Kemenpet, 2014), sedangkan tingkat mortalitas di Indonesia mencapai 50% sehingga akan sangat berpengaruh pada kesehatan hewan jenis unggas ini. penularan penyakit cacar pada ayam dan kalkun bervariasi karena penyakit ini sangat virulen (ganas) jika tidak dilakukan program pengendalian. Dibutuhkan *biosecurity* yang tepat dalam sebuah peternakan untuk menghindari penyakit masuk disuatu peternakan tersebut (Silva, 2009).



2.1.4 Patogenesa

Patogenesa *fowl pox* masuk melalui *Chorioallantoic membrane* (CAM) embrio ayam setelah absorpsi dan melakukan penetrasi akan menginfeksi kulit 1 jam setelah virus masuk kemudian setelah 2 jam virus pox masuk maka akan terjadi *uncoating*. Terjadi replikasi *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) dimulai antara waktu 12-24 jam. Titer maksimum akan dicapai ketika proliferasi sel telah berhenti. Periode laten membutuhkan 48 jam dari virus masuk dan akan menimbulkan infeksi pada kulit ayam setelah 72 jam virus masuk. Menginfeksi CAM pada 96 jam setelah virus masuk. Virus pox pada unggas ini muncul pada CAM dengan melakukan proses *budding* dan tambahan pada membran luar yang diperoleh dari sel membran. Infeksi virus akan dirakit di sitoplasma sel yang terinfeksi. *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) yang diekstraksi dari virus ini akan menuju CAM embrio ayam. Satu partikel virus yang masuk dapat menginfeksi CAM dengan derajat keparahan yang sama (Gilhare, 2015).

2.1.5 Transmisi

Virus pox dapat tumbuh dan berkembang biak didalam sel-sel kulit dan sel selaput lendir. Pada keadaan kering misal didalam keropeng yang terlepas virus dapat bertahan hidup 3-4 tahun. Virus pox ini juga dapat ditularkan melalui lingkungan tercemar partikel yang berasal dari bulu-bulu atau scrab yang mengandung virus. Kondisi seperti inilah yang dapat mendukung terjadi infeksi pada kulit maupun infeksi pada saluran pernafasan atas. Infeksi virus ini juga dapat terjadi melalui penularan mekanis pada luka terbuka. Serangga dalam hal ini bertindak sebagai vektor yang dapat mendepositkan virus pada mata. Dilanjutkan



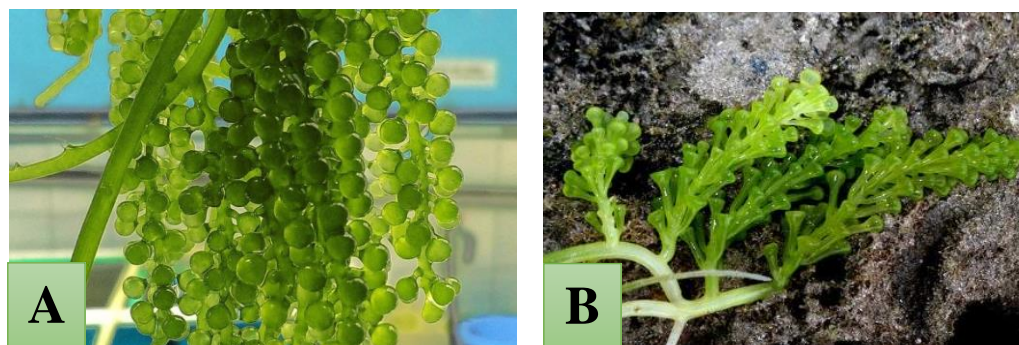
dapat di uji menggunakan immunobloting atau PCR (*Polimerase Chain Reaction*) untuk mengidentifikasi viral genom (Gilhare, 2015).

2.1.8 Pencegahan

Seperti kebanyakan virus lain, bahwa virus pox tidak ada obat melainkan dibutuhkan pencegahan karena dinilai efektif dalam menangani virus pox (Kemenpet, 2014). Adapun pencegahan yang dapat dilakukan yaitu melakukan vaksinasi pada unggas menggunakan metode tusuk sayap. Vaksinasi dilakukan pada umur 4 minggu dan pada pullet 1-2 bulan sebelum bertelur. Beberapa hari setelah dilakukan vaksinasi pada daerah aplikasi vaksin akan mengalami lesi cacar yang ringan. Vaksinasi bias dilakukan pada saat ayam terserang ataupun dapat dilakukan untuk sembarang umur ketika diperlukan (Kemenpet, 2014).

2.2 Anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*)

Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) telah banyak tersebar diseluruh perairan Indonesia, anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) ini termasuk jenis alga yang memiliki pigmen klorofil yang memberi warna hijau pada tumbuhan ini (**Gambar 2.4**) dan berperan penting dalam proses fotosintesis (Dimara dkk., 2012)



Gambar 2.4 Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) (Dimara dkk., 2012)

Keterangan : A. Anggur laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) siap panen
B. Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) muda

Tanaman rumput laut hijau (*Caulerpa racemosa*) memiliki klasifikasi sebagai berikut menurut Widodo (2013) berikut ini :

Klasifikasi Tanaman *Caulerpa racemosa*

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Chlorophyceae
Ordo	: Caulerpales
Famili	: Caulerpaceae
Genus	: Caulerpa
Spesies	: <i>Caulerpa racemosa</i>

Kandungan didalam anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) diantaranya Klorofil, Fenol, sterol, serta kartenoid

1. Klorofil

Klorofil yang berfungsi sebagai antiviral dalam meningkatkan sistem kinerja peredaran darah, sistem imun, serta sistem pernafasan. Klorofil juga berperan dalam menanggulangi anemia, kanker, radang pada kulit, hipertensi, serta sebagai antibakteri, pengganti sel-sel yang telah rusak . Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) telah banyak ditemukan didaerah tropis maupun subtropis seperti Indonesia, Malaysia, Singapura dan masih banyak lagi (Dimara dkk., 2012) Alga jenis ini dapat tumbuh pada perairan keruh maupun perairan tenang namun terdapat karang substrat dikarenakan akar yang kokoh dan bercabang pendek **Gambar 2.4** (Dimara dkk., 2012)

2. Fenol

Fenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan untuk melawan radikal bebas (Saxena *et al.*, 2012). Fenol bersifat redoks, yang memungkinkan untuk bertindak sebagai donor ion hidrogen (H), agen pereduksi, radikal hidroksil (OH), atau pemulih superoksida radikal (O^2) Adapun mekanisme fenol yang berperan sebagai antioksidan dengan cara menyerahkan sebagian atom hidrogen (H) menuju radikal bebas, sehingga radikal bebas akan stabil (Leopoldini *et al.*, 2004).

3. Karotenoid

Karotenoid memiliki peran sebagai antioksidan, karotenoid mampu melindungi sel dan organisme dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Kinerja karotenoid dengan cara meniadakan aktivitas spesies radikal bebas. Radikal bebas yang dihambat oleh karotenoid dilakukan oleh β -karoten (Stahl, 2003).

4. Sterol

Sterol merupakan molekul bioaktif yang berperan dalam aktivitas antibakteri yang terdapat dalam ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*). Mekanisme kerja yaitu interaksi permukaan molekul sterol yang ada dalam ekstrak dengan dinding sel dan membran bakteri yang menyebabkan perubahan pada struktur primer dinding sel dan membran, yang pada akhirnya mengarah pada pembentukan pori dan degradasi komponen bakteri. Telah dilaporkan bahwa sterol bekerja dengan cara merusak permeabilitas struktur membran dari bakteri (Chakraborty *et al.*, 2011).

2.3 Telur Ayam Berembrio (TAB)

Telur Ayam Berembrio sering digunakan dalam penelitian. Telur Ayam Berembrio (TAB) difungsikan sebagai pembiakan virus yang baik terutama virus pox. Inokulasi yang dilakukan melalui rute *membrane chorioalantois* adalah rute yang paling aman dikarenakan akan mengurangi terjadi kematian embrio. Virus pox yang dimasukkan kedalam *membran chorioalantois* akan cepat terlarut didalam cairan allantois karena cairan allantois adalah bagian dari cairan putih telur (Albumin). Senyawa yang terlarut didalam cairan alantois akan bergerak menuju kedalam cairan amnion. Kemudian senyawa tersebut akan secara perlahan diserap kedalam tubuh embrio melalui mulut menuju trakea sehingga tidak akan menimbulkan penumpukan senyawa dalam embrio (Murtini dkk., 2006).

2.3.1 Imunitas pada embrio ayam

Sistem imun merupakan suatu sistem untuk perlindungan terhadap invasi mikroorganisme yang dapat mengganggu perkembangan khususnya pada embrio ayam saat masa pertumbuhan. Adapun macam-macam sistem imun yaitu sistem imun humoral yang ditandai dengan melakukan sekresi terhadap antibodi yang masuk oleh sel- sel limfosit B dan sistem imun seluler berfungsi untuk merespon antigen atau bahan asing dengan cara melakukan penghancuran terhadap bahan asing tersebut yang dilakukan oleh sel-sel efektor (Sel T). Unggas memiliki bursa fabrisius yang berfungsi sebagai sistem imun humoral dan tymus sebagai sistem imun seluler (Jancovic *et al.*, 1975).

1. Organ limfoid primer

Stem cell yang terdapat pada sumsum tulang akan membentuk sel-sel yang memiliki peran dalam sistem pertahanan tubuh. Sebagian berkembang menjadi sel myeloid (fagosit, makrofag, dan mikrofas) sebagian menjadi calon sel limfoid (limfosit T, limfosit B, dan natural killer atau NK). Organ limfoid primer berfungsi sebagai tempat embriogenesis dan kematangan sel limfoid seperti timus. Timus akan mengecil dengan bertambahnya umur, sebagai tanda maturasi pada sistem imun pada individu. Timus, mengandung banyak sel T, terutama terlibat di dalam imunitas seluler, yang berfungsi untuk perkembangan limfosit T, bursa, dan sumsum tulang yang mengandung sel Bu dan Bo yang aktif dalam imunitas humoral, dan limpa mengandung sel T, Bu dan Bo (Linna *et al.*, 1971) berpartisipasi dalam respon imun seluler dan humoral. Limfosit pertama kali terlihat di limpa dan sumsum tulang pada hari ke-11 (Jancovic, *et al.*, 1975).

Bursa berkembang pada masa pembentukan embrio dan setelah penetasan. Pada saat penetasan, setiap folikel akan berhubungan langsung dengan epitel yang bertugas memisahkan ruang limfoid dari lumen bursa. Bursa fabrsius dikelilingi oleh lapisan otot polos tebal berfolikel. Perkembangan bursa menjadi lambat dan menyebabkan disfungsi setelah penetasan. Bursa fabrisius dapat berkembang maksimal pada umur 8-9 minggu. Semakin bertambahnya umur, apoptosis pada bursa terjadi pada umur 3-28 minggu sedangkan menurut Li *et al.* (2008) apoptosis terjadi pada umur 1-24 minggu. Bursa fabrisius adalah tempat diferensiasi dan pematangan sel limfosit B. Kekurangan asam amino seperti

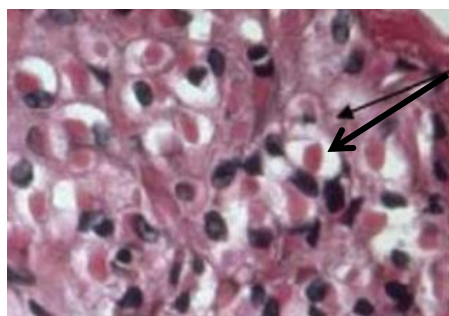
Methionine pada bursa fabrisius menurunkan pembentukan limfosit namun dapat meningkatkan apoptosis (Jancovic *et al.*, 1975).

2. Organ limfoid sekunder

Sel imun yang telah matang di limfoid primer akan bersirkulasi dan masuk ke organ limfoid sekunder. Sel prekursor myeloid dalam organ limfoid sekunder berdeferensiasi menjadi sel granulosit (neutrofil, basofil, dan eosinofil), sel monosit, sel makrofag dan sel NK. Organ limfoid sekunder memiliki peran untuk pematangan kembali serta terhadap sel-sel limfoid pada saat tumbuh mulai dapat berkontak langsung dengan antigen tertentu dan dapat terjadi proses seleksi limfoid yang kompeten untuk merespon antigen. Limpa dan (*Mucosal Associated Lymphoid Tissue*) MALT termasuk organ limfoid sekunder (Jancovic *et al.*, 1975).

2.4 Inclusion Bodies

Lesi yang dihasilkan oleh virus pox bentuk cutaneous maupun difterik akan memberikan gambaran hiperplasia epitel, degenerasi hidropik yang disertai oleh reaksi radang, meliputi infiltrasi heterofil, makrofag, limfosit serta dapat ditemukan benda inklusi yang bersifat eosinofilik yang terletak secara intrasitoplasmik (*Bolingers bodies*) seperti pada **gambar 2.5** (Gilhare, 2015)

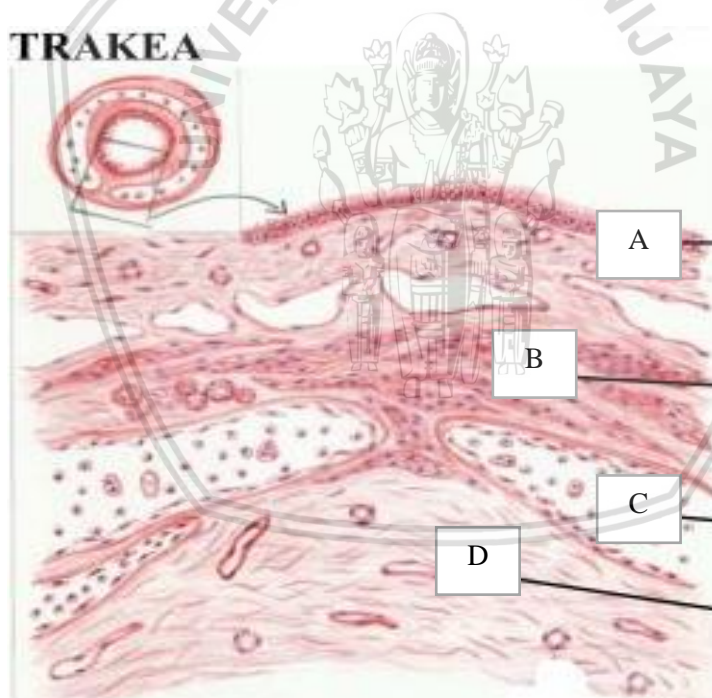


Gambar 2.5 Inclusion bodies pada CAM telur ayam berembrio (Gilhare, 2015)

2.5 Trakea

Trakea merupakan tabung udara pada unggas trakea terdiri dari cincin cartilago yang berfungsi untuk mencegah terjadi ketidakseimbangan tekanan pada saluran pernafasan karena terdapat tekanan negatif saat ayam bernafas **Gambar**

2.6 Struktur histologi pada trakea meliputi : Tunika mukosa dengan epitel pseudo-komplek bersilia, membrana basalis, lamina propria, lapisan serabut elastis longitudinal. Lapisan sub mukosa terdapat glandula, membrana fibro-elastis dengan cincin kartilago. Lapisan otot yang hanya ditemukan dibagian dorsal serta tunika adventitia seperti pada **Gambar 2.6**.



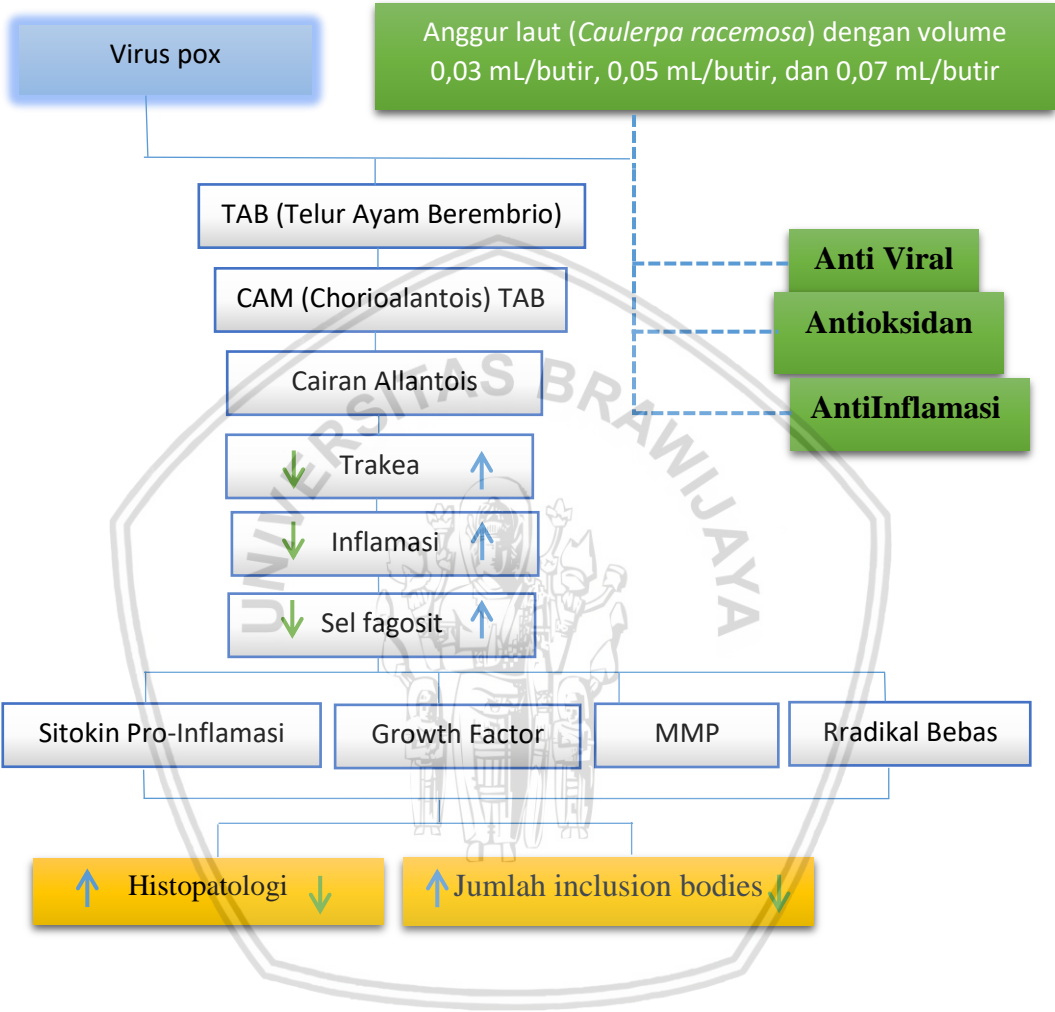
Gambar 2.6 Histologi Normal Trakea

Keterangan : A.Tunika mukosa
B.Tunika muskularis
C.Tunika submukosa
D. Tunika Adventisia

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- : variabel bebas
- : Variabel terikat
- ↑ : Efek virus pox
- ↓ : Efek *Caulerpa racemosa*
- Fungsi

Pemberian preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) memiliki potensi sebagai antivirus dimana pada saat virus pox masuk kedalam TAB, virus akan diperangi dengan cara melisiskan struktur virus sehingga virus tidak dapat melakukan proses adhesi pada TAB. Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) bersifat sebagai antimikroorganisme, antioksidan, dan antiinflamasi. Senyawa aktif yang berfungsi sebagai antivirus akan berinteraksi dengan dinding sel dan membran sel virus sehingga merusak barrier permeabilitas pada struktur membran virus dan menyebabkan perubahan pada struktur primer dinding sel dan akan terjadi degradasi komponen virus. Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) sebagai anti inflamasi bekerja dengan cara menghambat aktifitas dari NF-kB yang merupakan faktor utama dari transkripsi untuk mengaktifkan respon seluler seperti inflamasi. Senyawa aktif antioksidan memiliki mekanisme untuk menangkal radikal bebas dengan cara akan mentransfer ion hidrogen (H^+) ke radikal bebas menyebabkan peningkatan stabilitas radikal bebas dan menghambat terjadinya stress oksidatif penyebab kerusakan jaringan.

Pemberian ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) diharapkan mampu berperan sebagai antivirus. Pada saat virus pox diinokulasikan melalui *Chorioalantois membrane* (CAM) pada TAB. Virus pox sesegera mungkin akan masuk kedalam cairan allantois (Albumin). Virus yang masuk akan terlarut didalam cairan alantois dan bergerak menuju kedalam cairan amnion. Selanjutnya virus pox tersebut akan secara perlahan diserap kedalam tubuh embrio melalui mulut menuju trakea dan dapat menyebabkan inflamasi pada daerah tersebut. Saat tubuh terinfeksi virus dan terjadi inflamasi maka tubuh akan merespon dengan

munculnya sel fagosit dan ketika faktor transkripsi NF-kB diaktifkan selanjutnya menstimulasi sitokin proinflamasi dan radikal bebas, ketika radikal bebas menerima sinyal untuk menuju lokasi inflamasi maka sel endotel akan menghasilkan sintesis mediator inflamasi dan molekul adhesi yang mengaktifkan growth faktor dan matrix metallo proteinase (MMP) untuk pertumbuhan sel baru untuk menyusun jaringan baru.

Sistem imun seluler yang pada masa embrio ayam yaitu sel limfosit T yang dihasilkan di tymus dimana sistem imun seluler ini memiliki fungsi untuk merespon antigen atau bahan asing yang masuk kedalam tubuh embrio dengan cara melakukan penghancuran benda asing yang dijalankan oleh sel-sel efektor (Sel T). sehingga apabila virus tidak dapat dilisiskan oleh sel fagosit maka akan menghasilkan masa dari partikel virus yang disebut dengan *inclusion bodies*.

3.2 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep penelitian, maka hipotesis yang dapat diajukan antara lain sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebagai tindakan preventif *fowl pox* (cacar unggas) pada telur ayam berembrio (TAB) diharapkan dapat mencegah kerusakan trakea yang dilihat berdasarkan gambaran histopatologi trakea.
2. Pemberian ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebagai tindakan preventif *fowl pox* (cacar unggas) pada telur ayam berembrio (TAB) diharapkan dapat mencegah terbentuknya *inclusion bodies*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium, antara lain :

Pemeliharaan dan pemberian perlakuan TAB yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Pembuatan virus pox dan pengamatan gambaran histopatologi trakea di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Pembuatan ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan Pembuatan preparat histopatologi trakea dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain, *dissecting set*, inkubator telur, rak telur, pelubang telur, mikroskop, *glove*, masker, *bulb*, *object glass*, *cover glass*, *autoclave*, timbangan, *blender*, gelas ukur, pot organ, *yellow tip*, mortar, *tube*, selotip kertas, cawan petri, timbangan, *micropipette*, saringan, *disposable syringe* 1 mL, *software Optilab viewer*, dan *Biological Safety Cabinet* 2 (BSC-2).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu TAB SPF, NaCl fisiologis, alkohol 10%, formula ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa*

racemosa), pewarnaan Hematoxilen-Eosin, jaringan trakea, *aquadest*, BNF 10%, parafin, PBS, serta etanol 96%, 90%, 80%, dan 70%.

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Rancangan penelitian dan persiapan Telur Ayam Berembrio (TAB).
2. Pembuatan ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*)
3. Pembuatan isolat virus pox
4. Proses Inokulasi
5. Pengambilan Trakea
6. Pembuatan preparat dan pengamatan gambaran histopatologi trakea dengan metode pewarnaan Hematoksilen-Eosin (HE).
7. Analisis data.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan menggunakan RAL. Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan jika ragam satuan percobaan yang digunakan homogen atau seragam. Telur Ayam Berembrio (TAB) dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing 4 ulangan. Berdasarkan rumus $t(n-1) \geq 15$ (Montgomery dan Kowalsky, 2011) :

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan rancangan penelitian, kelompok perlakuan dalam penelitian ini antara lain seperti pada **Tabel 4.1** berikut ini :

4.1 Tabel Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Perlakuan
Kelompok K (-)	TAB tanpa diinokulasi virus pox dan tanpa diberi preventif ekstrak anggur laut hijau(<i>Culerpa racemosa</i>).
Kelompok K (+)	TAB yang dilubangi dan diberi virus pox dengan volume 0,2 mL/butir dengan konsentrasi 10% tanpa pemberian preventif ekstrak anggur laut hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>)
Kelompok P1	TAB dilubangi dan diberi preventif ekstrak anggur laut hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>) dengan volume 0,03 mL/butir konsentrasi 100% serta diberi virus pox dengan volume 0,2 mL/butir dengan konsentrasi 10%
Kelompok P2	TAB dilubangi dan diberi preventif ekstrak anggur laut hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>) dengan volume 0,05 mL/butir konsentrasi 100% serta diberi virus pox dengan volume 0,2 mL/butir dengan konsentrasi 10%
Kelompok P3	TAB dilubangi dan diberi preventif ekstrak anggur laut hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>) dengan volume 0,07 mL/butir konsentrasi 100% serta diberi virus pox dengan volume 0,07 mL/butir dengan konsentrasi 10%

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini, antara lain adalah :

- Variabel bebas : volume virus pox dan volume preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*)

- b. Variabel terikat : gambaran histopatologi dan jumlah *inclusion bodies* pada trakea
- c. Variabel kontrol : homogenitas TAB, meliputi umur telur ayam, *Specific Pathogen Free* (SPF), suhu inkubator, dan kelembaban inkubator

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Telur Ayam Berembrio (TAB)

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa TAB SPF umur 9-11 hari, yang sebelumnya harus diamati didalam ruang gelap menggunakan teropong telur yang bertujuan untuk melihat ada atau tidak fertilitas embrio. Pengecekan fertilitas embrio ini dengan cara mengamati pembuluh darah dari embrio, kemudian TAB yang telah dipastikan sehat dan bagus dilakukan disinfeksi pada cangkang telur menggunakan alkohol 70%, setelah bersih TAB diletakkan didalam inkubator telur dengan suhu 37-38 °C (Wibowo, 2002). Pemeliharaan TAB dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

4.6.2 Pembuatan Ekstrak Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*)

Pembuatan ekstrak dimulai dari pengambilan bahan berupa anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*). Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) memiliki kadar air yang tinggi 98 %, bersifat mudah rusak, sehingga diperlukan *Styrofoam* untuk menjaga kesegaran dan kandungan dari anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*). Anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dicuci hingga bersih untuk memisahkan kotoran yang menempel menggunakan air, setelah anggur laut hijau

(*Caulerpa racemosa*) dibersihkan, maka langsung dihaluskan dengan cara diekstraksi menggunakan mortar (Kusmita, 2007).

Ekstraksi yang telah halus, kemudian ditimbang sebanyak 10 g menggunakan timbangan digital. Sampel ditambahkan CaCO_3 yang berfungsi sebagai agen penetral. Ekstraksi ini menggunakan Aseton dan methanol dengan menggunakan perbandingan 3:7, kemudian ekstrak disaring dengan kertas saring dan hasil residu dilakukan ekstraksi ulang sampai semua metabolit sekunder terangkat menggunakan pelarut yang sama. Setelah didapatkan lapisan pada larutan yang sudah pekat, maka ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dapat digunakan (Kusmita, 2007).

4.6.3 Pembuatan Isolat Virus Pox

Virus pox didapatkan dari isolat lapang berupa unggas yang terdapat lesi pada pial, jengger, dan kaki. Suspensi dibuat dengan cara mengkoleksi lesi tersebut dan digerus hingga halus didalam mortar. Organ digerus hingga halus, kemudian ditambahkan larutan pengencer sebanyak 8 mL. Ditambahkan antibiotik penicillin dan streptomycin yang bertujuan untuk mencegah bakteri lain masuk didalam suspensi. Dipindahkan suspensi kedalam tabung falcon. Dilakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Diambil supernatan dan dipindahkan kedalam tabung eppendorf (Roy, 2013).

4.6.4 Proses Inokulasi

Teknik melakukan inokulasi dilakukan pada kantung hawa untuk ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dan pada membran chorioalantois untuk virus

pox. Hewan coba yang digunakan, yaitu TAB berumur 9-11 hari kemudian dipersiapkan alat berupa pelubang telur untuk melubangi telur, bulb untuk memindahkan embrio menjauhi membran chorioalantois, peneropong telur, dan digunakan *disposable syringe* 1 mL dengan ukuran jarum, yaitu 25 G sebagai alat inokulasi. Tahapan pertama dilakukan inokulasi ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan volume berbeda, yaitu volume bertingkat 0,03 mL/butir, 0,05 mL/butir, dan 0,07 mL/butir dengan konsentrasi 100% pada masing-masing kelompok penelitian. Tahapan berikutnya, dilakukan inokulasi virus pox dengan volume 0,2 mL/butir dengan konsentrasi 10% pada masing-masing kelompok penelitian, kemudian setelah selesai inokulasi, maka kedua lubang ditutup dengan isolasi kertas. Setelah TAB ditutup, tahapan berikutnya adalah meletakkan TAB pada inkubator telur dengan suhu 37°C dengan posisi horizontal. Dilakukan pengamatan setiap hari sampai hari ke-7 pasca inokulasi dengan cara *candling* (Wibowo, 2002).

4.6.5 Pengambilan Trakea

Pengambilan trakea pada TAB dilakukan ketika TAB siap panen, maka terlebih dahulu TAB dimasukkan kedalam suhu 4°C selama semalam. Selanjutnya, TAB dipecah perlahan menggunakan gunting steril terlebih dahulu. Daerah trakea diambil dan dicuci organ trakea menggunakan NaCl Fisiologis. Trakea yang sudah dibersihkan kemudian difiksasi menggunakan larutan BNF 10% (Purwandari dkk., 2015).

4.6.6 Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histopatologi Trakea Dengan Metode Pewarnaan Hematoksilen-Eosin (HE)

Adapun tahapan pembuatan preparat histopatologi dilakukan setelah sampel trakea diambil, kemudian dibersihkan dengan cairan fisiologis, yaitu NaCl Fisiologis 0,9%. Tahapan pertama, yaitu difiksasi menggunakan larutan BNF 10% dengan pH 6,5 – 7,5. Setelah proses fiksasi, dilakukan proses *trimming*, kemudian sampel dimasukkan kedalam *cassette tissue* yang terbuat dari plastik (Purwandari dkk., 2015).

Tahapan berikutnya, yaitu dehidrasi adalah proses mengikat atau penarikan molekul air dari dalam jaringan tersebut yang bertujuan untuk mengkosongkan ruang-ruang antarsel untuk diisi oleh molekul paraffin, yang dilakukan menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 70%, 80%, dan 90%. Tahapan selanjutnya, Tahapan penjernihan (*clearing*) yang berfungsi untuk menarik molekul etanol atau dehidran yang lain untuk dapat diisi oleh molekul paraffin, yang dilakukan menggunakan xylol I dan xylol II yang masing-masing selama 1 jam. Tahapan selanjutnya, yaitu pencetakan atau parafinisasi (*impregnasi*) menggunakan parafin I dan parafin II, yang dilakukan masing-masing 30 menit (Purwandari dkk, 2015).

Tahapan selanjutnya, yaitu tahap *embedding*, proses *embedding* merupakan penanaman jaringan kedalam media parafin yang bertujuan untuk memudahkan dalam proses pemotongan, setelah potongan dalam parafin padat, blok-blok parafin dipotong tipis dengan tebal 4-5 mikron menggunakan alat yang disebut

mikrotom. Hasil dari potongan dimasukkan kedalam air hangat dengan suhu 46°C , kemudian diangkat yang bertujuan untuk meregangkan potongan agar tidak berlipat. Hasil potongan tersebut, kemudian diangkat dan diletakkan pada *object glass* dan dikeringkan selama satu malam dalam inkubator dengan suhu 60°C sehingga dapat dilakukan pewarnaan HE (Purwandari, dkk., 2015).

Langkah- langkah pengamatan setelah preparat trakea jadi, yaitu dengan mengamati histopatologi trakea dan jumlah *inclusion bodies* dengan perbesaran 400x (Purwandari dkk., 2015).

4.7 Analisa Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini berupa gambaran histopatologi struktur trakea yang diamati dengan mikroskop kemudian dibagi menjadi 5 lapang pandang dan didokumentasi menggunakan *Optilab Image Viewer* serta dijelaskan secara kualitatif. Sedangkan jumlah *inclusion bodies* dihitung secara manual dengan bantuan *Image Raster* kemudian dirata-rata, lalu dianalisa menggunakan uji *one way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% ($P < 0,05$) yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dan dijelaskan secara kuantitatif.





5.2 Pemilihan Dosis Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) dan Isolat Lapang Yang Digunakan

Percobaan pra-penelitian TAB diberikan volume anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) yang berbeda, masing-masing yaitu untuk kelompok P1 sebanyak 0,1 mL/butir, kelompok P2 sebanyak 0,15 mL/butir, dan kelompok P3 sebanyak 0,2 mL/butir. Pada kelompok P1 dan kelompok P2 TAB hidup selama 2 hari pasca inokulasi anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*), sedangkan kelompok P3 TAB mengalami kematian sebelum 24 jam. Dapat disimpulkan bahwa anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan pemberian sebanyak 0,2 mL/butir bersifat toksik terhadap embrio, sehingga dilakukan penurunan volume menjadi 0,03 mL/butir, 0,05 mL/butir, dan 0,07 mL/butir. Virus pox yang digunakan merupakan isolat lapang yang didapatkan dari salah satu peternakan di kota Blitar berupa ayam yang terinfeksi virus pox ditandai dengan gejala klinis berupa nodul-nodul pada pial dan jengger (**Gambar 5.2**)

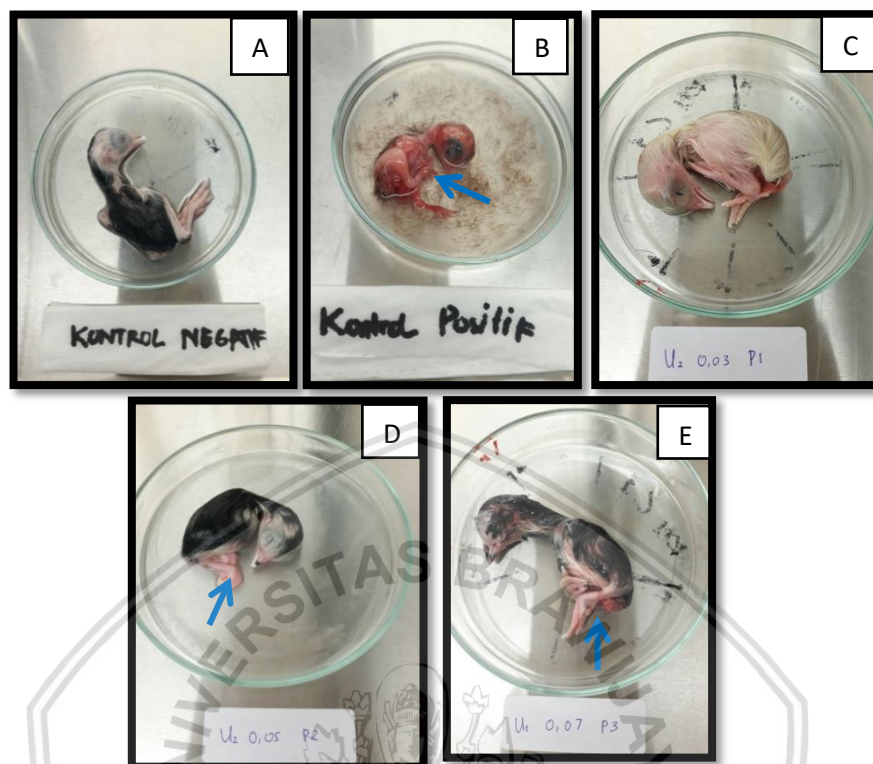


Gambar 5.2 Gejala Klinis isolat lapang virus pox

Keterangan : (↗) Nodul pada pial dan jengger serta daerah yang tidak ditutupi oleh bulu (Dokumentasi Pribadi, 2018)

5.3 Makroskopis Embrio Ayam Bertunas

Pada pemeriksaan makroskopis, embrio ayam bertunas didapatkan hasil pada kelompok (K-) (**Gambar 5.3**) embrio masih dalam keadaan sehat yang ditandai dengan pertumbuhan rambut secara normal, organ tubuh yang lengkap, paruh yang telah terbentuk sempurna, dan tidak mengalami edema pada masing-masing daerah tubuh embrio. Pada kelompok (K+) (**Gambar 5.3**) didapatkan embrio mengalami kerontokan pada rambut yang dapat disebabkan oleh virus pox, dimana menurut Roy (2015) apabila virus masuk kedalam tubuh embrio, maka akan mengakibatkan kerontokan pada rambut embrio dan menghambat proses pertumbuhan jaringan pada masa embrio ayam bertunas. Selain itu didapatkan ada oedema pada embrio ayam bertunas, terjadi kekerdilan embrio karena pertumbuhan yang terhambat oleh virus pox, sehingga organ seperti paruh belum terbentuk sempurna jika dibandingkan dengan embrio ayam bertunas yang sehat. Pada kelompok P1 didapatkan hasil embrio sehat yang ditandai dengan pertumbuhan rambut secara normal, organ tubuh yang lengkap, paruh yang telah terbentuk sempurna, dan tidak mengalami oedema pada masing-masing daerah tubuh embrio. Pada kelompok P2 secara fisik embrio sehat, pertumbuhan rambut yang normal, organ tubuh yang lengkap, paruh yang telah terbentuk sempurna, ditemukan oedema pada beberapa bagian tubuh seperti pada (**Gambar 5.3**), Pada kelompok P3 secara fisik embrio sehat yang ditandai dengan pertumbuhan rambut secara normal, organ tubuh yang lengkap, paruh yang telah terbentuk sempurna, namun ditemukan oedema pada beberapa bagian tubuh (**Gambar 5.3**)



Gambar 5.3 Makroskopis embrio ayam bertunas

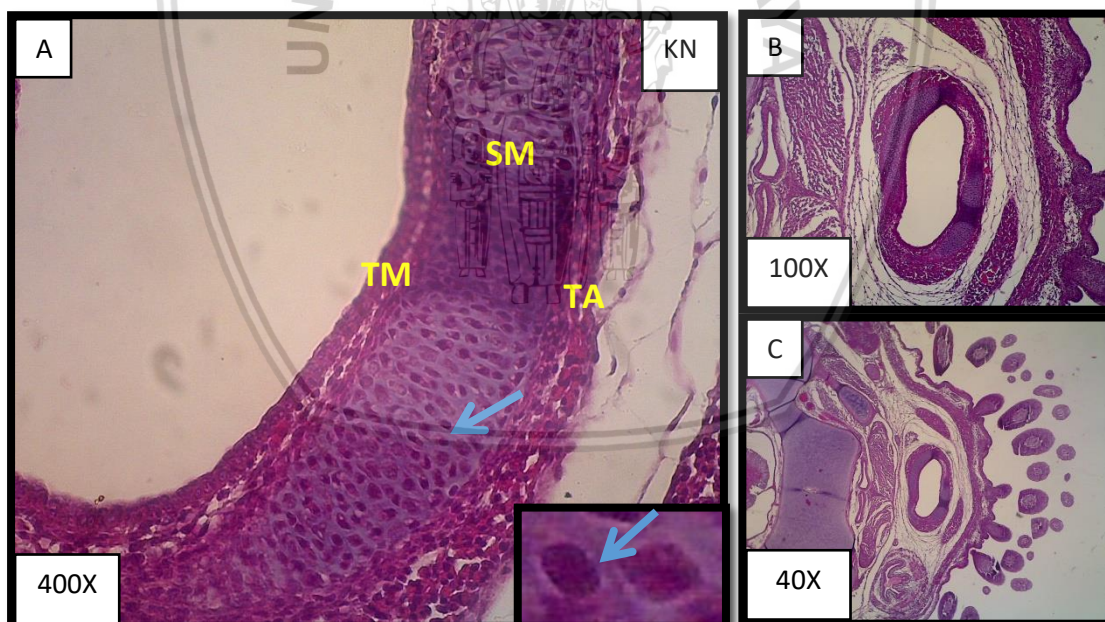
Keterangan : A.Kontrol K(-) embrio sehat B. Kontrol (K+) ada oedema berwarna merah dan terjadi kerontokan rambut pada TAB; C. Kelompok P1 embrio sehat dan tidak ditemukan oedema; D. Kelompok P2 embrio sehat dan ditemukan oedema ; E. Kelompok P3 embrio sehat namun ditemukan oedema; (↗) terjadi oedema (Dokumentasi pribadi, 2018)

Berdasarkan identifikasi virus pox pada TAB yang diamati secara makroskopis CAM menunjukkan adanya plaque serta oedema (**Gambar 5.1**) dan histopatologi CAM menunjukkan adanya *inclusion bodies* bersifat eosinofilik intrasitoplasmik (**Gambar 5.1**) serta pengamatan makroskopis embrio ayam bertunas yang menunjukkan adanya oedema pada beberapa bagian tubuh (**Gambar 5.3**) maka dapat disimpulkan bahwa isolat yang didapatkan dari kasus lapang pada salah satu peternak di kota Blitar adalah positif virus pox.

5.4 Efek Preventif Ekstrak Anggur Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) pada Telur Ayam Berembrio (TAB) Yang Diinfeksi Oleh Virus Pox Terhadap Gambaran Histopatologi Trakea

Penelitian ini menggunakan hewan coba yaitu telur ayam berembrio (TAB), diberi perlakuan dengan cara membuat suspensi virus (**Lampiran 4**) yang didapatkan dari isolat lapang berupa ayam yang terdapat lesi pada pial dan jengger pada (**Lampiran 7**). Tahap awal yaitu diinokulasikan menggunakan anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan volume yang berbeda, yaitu 0,03 mL/butir, 0,05 mL/butir, dan 0,07 mL/butir pada kantung hawa di masing-masing kelompok perlakuan, dilanjutkan pemberian suspensi virus pox dengan volume 0,2 mL/butir pada CAM. Kelompok K(+), yaitu kelompok TAB yang diberi virus pox sebanyak 0,2 mL/butir tanpa diberi preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*). Kelompok K(-), yaitu kelompok TAB yang tidak di beri perlakuan apapun hingga hari panen. Kelompok P1, yaitu kelompok TAB yang diberi preventif anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,03 mL/butir dan virus pox sebanyak 0,2 mL/butir. Kelompok P2, yaitu kelompok TAB yang diberi preventif anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,05 mL/butir dan virus pox sebanyak 0,2 mL/butir. Kelompok P3, yaitu kelompok TAB yang diberi preventif anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,07 mL/butir dan virus pox sebanyak 0,2 mL/butir. Penelitian ini diharapkan dapat berpengaruh pada TAB yang diinokulasikan virus pox dengan menggunakan preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) untuk mencegah virus yang masuk dengan mekanisme melisiskan struktur virus, dilakukan pemeriksaan menggunakan metode pewarnaan HE yang dilihat berdasarkan gambaran histopatologi trakea.

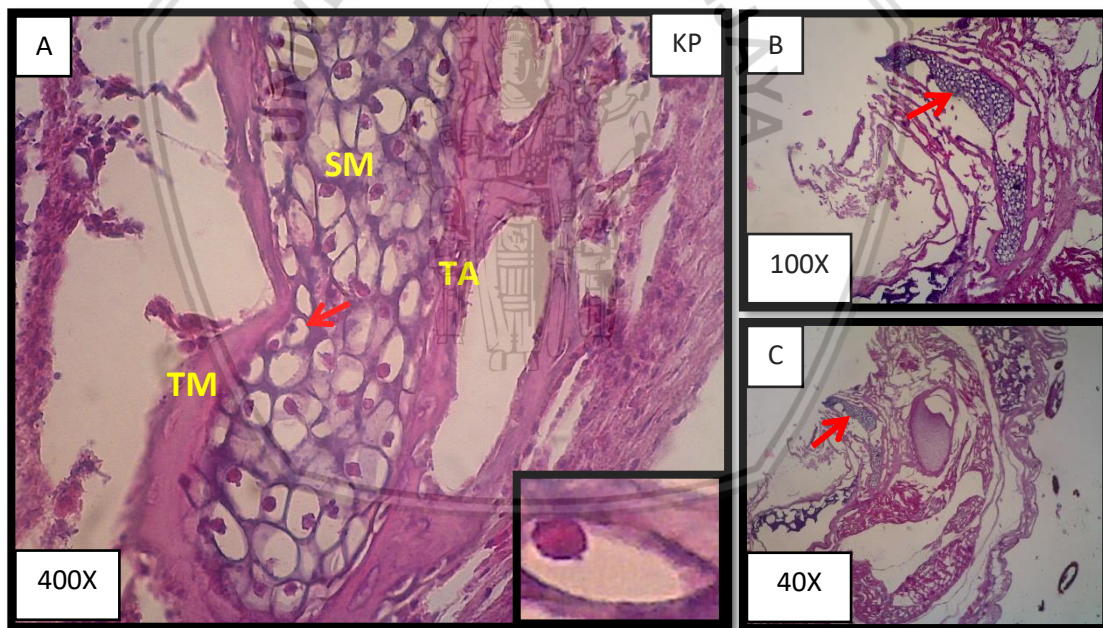
Menurut Junqueira (2005) histologi normal pada trakea, yaitu trakea disusun oleh epitel silindris bersilia yang memiliki sel goblet untuk menghasilkan mukus yang berfungsi untuk melindungi dinding trakea; terdapat tunika mukosa, tunika muskularis yang terdiri dari otot polos; tunika submukosa terdapat cincin berbentuk C dari 16-20 tulang rawan hyaline; dibalut dengan jaringan fibrosa, serta tunika adventisia. Kelompok K(-) (**Gambar 5.**) terdapat tunika mukosa, tunika muskularis yang belum terbentuk sempurna pada TAB, tunika submukosa dengan tulang rawan hialine dan tunika adventisia. Histologi trakea pada kontrol negatif dapat dijadikan acuan untuk mempelajari histopatologi pada kelompok kontrol perlakuan lain.



Gambar 5.4 Kelompok K(-) dengan Metode Pewarnaan Hematoxylen Eosin (HE)
Keterangan : A. (TM) Tunika mukosa; (SM) Tunika submukosa; (TA) Tunica adventisia; (↗) isogenik dengan perbesaran 400x; B. Trakea perbesaran 100x; C. Trakea perbesaran 40x (Dokumentasi pribadi, 2018)

Kelompok K(+) pada **Gambar 5.5** terdapat perubahan pada trakea, yaitu ditandai dengan kerusakan lapisan pada trakea yang disebabkan oleh virus pox

dan ditemukan ada *inclusion bodies* pada trakea. *Inclusion bodies* merupakan masa dari partikel virus, dimana *inclusion bodies* ini dapat menjadi salah satu metode identifikasi untuk mengetahui ada virus pox yang menyerang trakea. Menurut Gilhare (2015) *inclusion bodies* memiliki afinitas dengan pewarnaan eosin, selama multifikasi virus membentuk struktur spesifik didalam sel yang berasal dari masa partikel virus. Virus pox dapat berkembang biak didalam sitoplasma bersifat eosinofilik yang terletak secara intrasitoplasmik, yang terlihat pada gambaran histopatologi, dimana inti terdesak kesamping dan terjadi pelebaran sitoplasma.



Gambar 5.5 Kelompok K(+) dengan Metode Pewarnaan Hematoxylen eosin (HE)
Keterangan: A. (TM) Tunika mukosa; (SM) Tunika submukosa; (TA) Tunika adventisia; (↗) *Inclusion bodies* dengan perbesaran 400x; B. Trakea perbesaran 100x; C. Trakea perbesaran 40x (Dokumentasi pribadi, 2018)

Pada kelompok P1 trakea mengalami kerusakan, namun tidak sampai merusak lapisan dari trakea itu sendiri; batas tunika mukosa terlihat menipis; terdapat submukosa yang berisi tulang rawan hialin; dan terjadi pelebaran

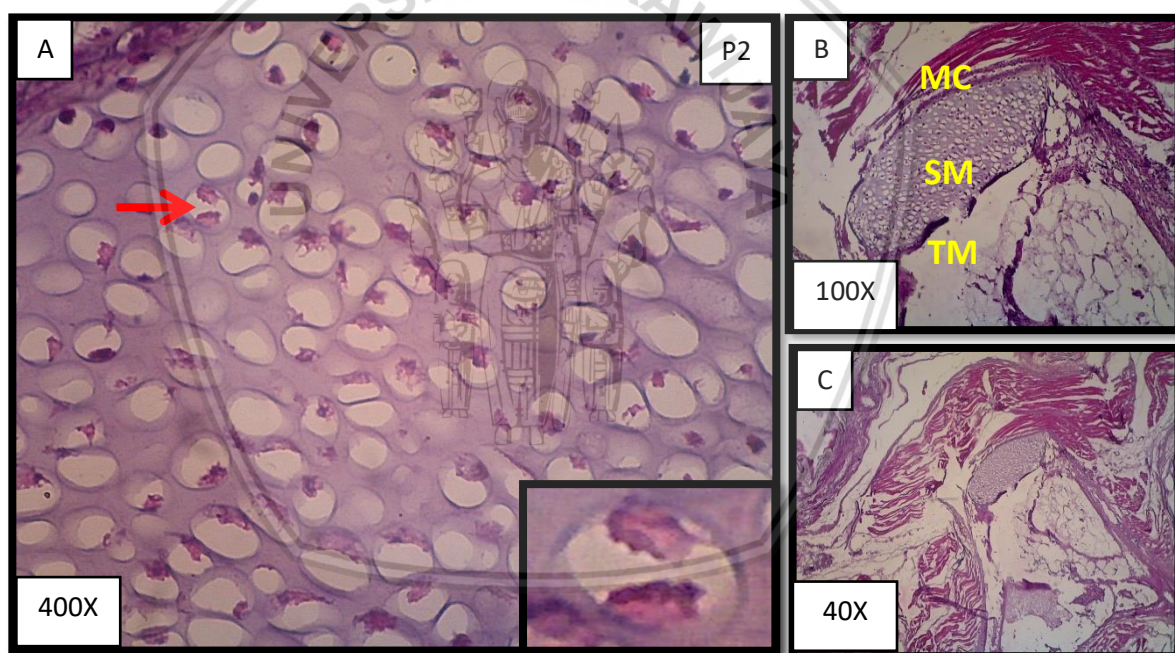
sitoplasma; lapisan muskularis seperti terkikis dapat disebabkan pembentukan muskularis yang terhambat karena ada virus pox yang menyerang pada TAB; serta lapisan tunika adventisia yang hilang (**Gambar 5.6**). Pada perlakuan ini tidak terlihat *inclusion bodies* sehingga pemberian anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0,03 mL/butir efektif untuk mengurangi terjadi infeksi virus pox. Pada kelompok P1 ini sel mengalami mitosis, mitosis merupakan proses terjadi pembelahan dari calon masa partikel virus yang akan menjadi *inclusion bodies* (Sawale,2012).

Mekanisme kerja dari anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) saat masuk kedalam tubuh embrio sebagai preventif yaitu, antioksidan yang terkandung didalam anggur laut hijau akan bekerja secara efektif karena mampu mendonorkan sebuah elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas akan kehilangan kemampuannya untuk menyerang sel dan rantai oksidasi akan terputus apabila radikal bebas menerima elektron dari antioksidan. Antioksidan yang telah mendonorkan elektron akan berubah menjadi radikal bebas. Pada fase ini antioksidan tidak berbahaya karena antioksidan memiliki kemampuan untuk menyesuaikan perubahan elektron tanpa menjadi reaktif (Ridhowati, dkk., 2016). Sebagai antiviral anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) memiliki mekanisme dengan cara merusak dinding sel mikroorganisme.

Selain itu menurut Insan dan Widyartini (2008) anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) secara normal memiliki senyawa toksik yaitu caulerpin yang bersifat racun pada beberapa organisme pada pemberian dengan volume tinggi, karena dapat menghilangkan senyawa bioaktif lainnya yang terkandung



pemberian dengan volume tinggi, karena dapat menghilangkan senyawa bioaktif lain yang terkandung didalam anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*). sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa kelompok P2 senyawa antiviral dan antioksidan dihambat mekanismenya oleh caulerpin sehingga *inclusion bodies* tetap terbentuk akibat virus pox yang masuk tanpa dicegah oleh metabolit sekunder yang bekerja sebagai antioksidan dan antiviral, ketika virus pox telah mampu masuk kedalam sel maka perlahan *inclusion bodies* dapat menyebar menjadi sistemik dan perlahan akan menghancurkan jaringan yang terinfeksi virus pox.

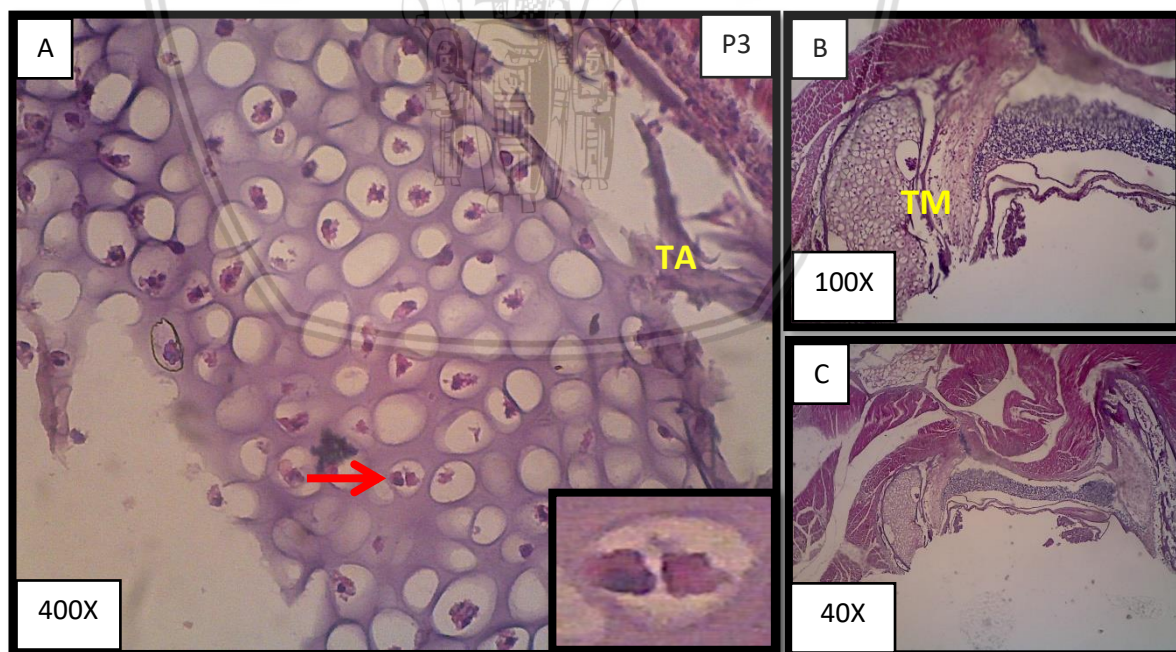


Gambar 5.7 Kelompok P2 dengan metode pewarnaan Hematoxylen Eosin (HE)


Keterangan: A. (↗) *Inclusion bodies*; B. (TM) Tunika mukosa mengalami penipisan; (SM) Tunika submukosa masih ditemukan *inclusion bodies*; (MC) Tunika muskularis yang belum terbentuk sempurna C. Trakea perbesaran 40X (Dokumentasi pribadi, 2018)

Pada kelompok P3 mengalami perubahan berupa kerusakan struktur dari trakea; batas tunika mukosa sangat tipis; tunika submukosa masih ditemukan *inclusion bodies*; jaringan mengalami kerusakan yang terlihat pada (**Gambar 5.8**)

Pada kelompok P3 ini trakea yang diberi volume anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,07 tidak efektif karena senyawa bioaktif yang menurut Insan dan Widyartini (2008) yaitu caulerpin yang bersifat toksik apabila pemberian dengan volume tinggi, karena dapat menghilangkan senyawa bioaktif lain yang terkandung didalam anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*). sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa metabolit sekunder yaitu antiviral dan antioksidan yang seharusnya dibutuhkan untuk mencegah virus pox masuk justru tidak berfungsi karena mekanisme kerja dari metabolis sekunder tersebut dihambat oleh caulerpin sehingga *inclusion bodies* tetap terbentuk akibat virus pox yang masuk tanpa dicegah oleh senyawa bioaktif antioksidan dan antiviral, ketika virus pox masuk kedalam sel maka membentuk *inclusion bodies* dan akan merusak sel.



Gambar 5.8 Kelompok P3 dengan Metode Pewarnaan HE

Keterangan: A.() *Inclusion bodies* dengan perbesaran 400x; (TA) Tunika adventisia yang menipis B (TM) Tunika mukosa yang sangat tipis (Dokumentasi pribadi, 2018)



Pengamatan jumlah *inclusion bodies* dapat dilihat berdasarkan gambaran histopatologi menggunakan metode pewarnaan HE. Prinsip pewarnaan HE, yaitu nukleus atau inti yang bersifat asam akan menarik zat atau larutan yang bersifat basa, sehingga akan terwarnai biru, sedangkan sitoplasma bersifat basa, sehingga akan menarik partikel zat atau larutan yang bersifat asam sehingga akan menghasilkan warna merah muda (Brown, 2015).

Hasil analisis secara statistik uji *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) menggunakan *Software SPSS* menunjukkan bahwa TAB kelompok K(-) tanpa perlakuan apapun menunjukkan rata-rata $0,000 \pm 0,000$ (**Tabel 5.1**), yang memiliki arti kelompok kontrol K(-) memiliki perbedaan nyata jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) dan tidak ditemukan *inclusion bodies* pada kontrol K(-) ini. Pada kelompok K(+) berbeda nyata ($\alpha < 0,05$) dengan kelompok (K-), P1, P2, dan P3 yang menunjukkan rata-rata $9,000 \pm 0,707$ (**Tabel 5.1**). Jumlah *inclusion bodies* pada kontrol K(+) ini disebabkan karena tidak ada sistem pertahanan tambahan pada embrio, sehingga sel tidak mampu melisiskan virus yang masuk dengan volume 0,2 mL/butir.

Jumlah *inclusion bodies* pada kelompok P1 yang diberi preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0,03 mL/butir dan virus pox dengan volume 0,2 mL/butir menunjukkan rata-rata sama dengan kelompok K(-) yaitu $0,000 \pm 0,000$ (**Tabel 5.1**) yang menyatakan bahwa tidak ditemukan *inclusion bodies* pada kelompok perlakuan ini.

Kelompok P2 yang diberi preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0,05 mL/butir dan diberi virus pox sebanyak 0,2

mL/butir menunjukkan rata-rata $1,500 \pm 0,408$ (**Tabel 5.1**) yang memiliki arti tidak adanya perbedaan nyata dengan kelompok kontrol positif (K+), hal tersebut dapat disebabkan oleh volume ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,05 mL/butir masih kurang efektif sebagai volume preventif.

Kelompok P3 yang diinokulasikan preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0,07 mL/butir dan diberi virus pox sebanyak 0,2 mL/butir menunjukkan rata-rata $1,50 \pm 0,408$ (**Tabel 5.1**) yang memiliki arti tidak adanya perbedaan nyata dengan kelompok kontrol positif (K+), hal tersebut dapat disebabkan oleh volume ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,07 mL/butir menunjukkan bahwa volume tersebut sangat kurang baik sebagai volume preventif karena anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) juga memiliki kandungan senyawa *caulerpine* yang dalam volume tinggi akan menyebabkan toksik. Jika lokasi yang diserang virus telah mampu dicegah pada volume yang rendah maka terlalu banyak pemberian anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) akan mengakibatkan toksik pada embrio ayam bertunas dan menghambat pembentukan regenerasi sel sehingga akan menyebabkan kerusakan pada jaringan hingga kematian embrio

Tabel 5.1 Rata-Rata Jumlah *Inclusion bodies* Pada Perbesaran Mikroskopis 400x

Kelompok	Rata-rata jumlah badan inklusi \pm SD
Kontrol Negatif (KN)	0,000 \pm 0,000 ^a
Kontrol Positif (KP)	9,000 \pm 0,707 ^c
Perlakuan 1 (P1)	0,000 \pm 0,000 ^a
Perlakuan 2 (P2)	1,500 \pm 0,408 ^b
Perlakuan 3 (P3)	1.500 \pm 0,408 ^b

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Berdasarkan perhitungan jumlah *inclusion bodies* maka dapat ditarik kesimpulan bahwa kelompok P1 dengan volume pemberian anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,03 mL/butir adalah volume terbaik dalam mencegah terbentuknya *inclusion bodies* pada telur ayam berembrio (TAB).

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang dipaparkan didapatkan kesimpulan bahwa :

1. Pemberian anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) ini memiliki efek preventif yang ditandai dengan tidak terjadinya kerusakan trakea dan tidak ditemukan *inclusion bodies* pada kelompok P1 yang diinokulasikan virus pox
2. Volume anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 0,03 mL/butir merupakan volume terbaik dalam mencegah kerusakan trakea

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan yakni :

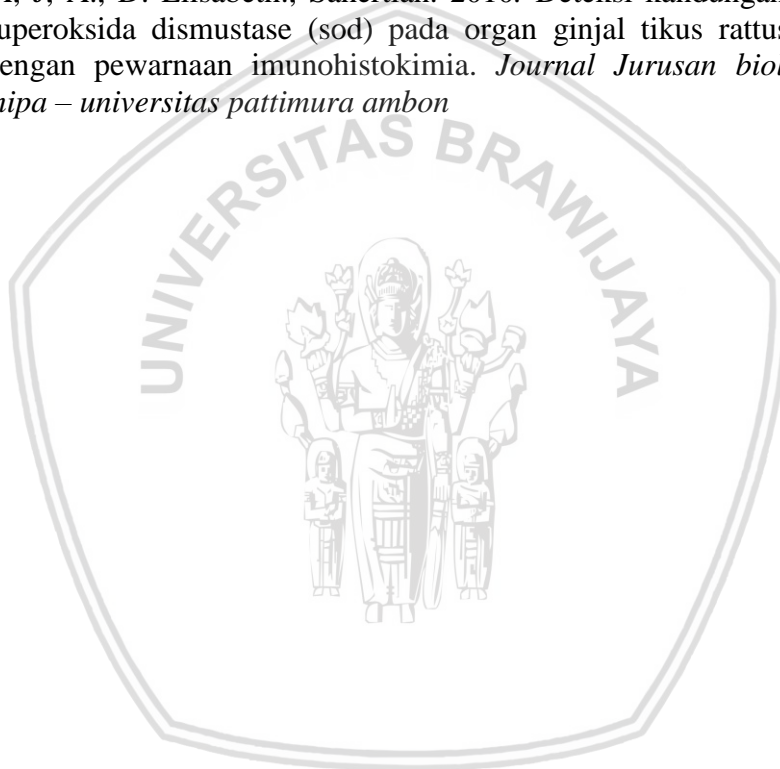
1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai volume dan cara pemberian ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) pada hewan coba ayam yang terinfeksi virus pox sehingga akan menjadi acuan untuk referensi dan pengaplikasian lebih lanjut.
2. Perlu dilakukan uji kandungan zat aktif pada ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) untuk memastikan bahwa senyawa yang terkandung tidak terdapat kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Atkinson, C. T., J. K. Lease, R. J. Dusek, and M. D. Samuel. 2005. Prevalence of pox-like lesions and malaria in forest bird communities on leeward Mauna Loa Volcano, *Hawaii*. *Condor* 107:537–546.
- Chakraborty, D and B. Shah. 2011. Antimicrobial, Antioxidative and Anti-hemolytic Activity of Piper Betel Leaf Extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. India.
- Dimara, L, T. Nova B. Yenusi. 2012 . *Identifikasi Dan Fotodegradasi Pigmen Klorofil Rumput Laut Caulerpa racemosa (Forsskal) J.Agardh*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih
- Gilhare V, R., S. D. Hirpurkar., A. Kumar., S. Kumar., and T. Sahu. 2015. *Pock forming ability of fowl pox virus isolated from layer chicken and its adaptation in chicken embryo fibroblast cell culture*. Department of Veterinary Microbiology, College of Veterinary Science and Animal Husbandry, Anjora Durg, India.
- Insan, A.I., dan D.S. Widyartini. 2008. *Jenis-jenis Rumput Laut yang Berpotensi Sebagai Obat yang tumbuh pada Berbagai Subtrat di Pantai Ranababakan Nusakambangan Cilacap*. PTTI ; 21 – 23 Oktober 2008 - Cibinong Bogor.
- Jankovic, B, D., K. Isakovic, L. Lukic, N. L. Vujanovic, S. Petrovic And B. M. Markovic. Immunological Capacity Of The Chicken Embryo. 1975. *Immunology Research Centre, Belgrade, Rugoslavia*.
- Junqueira, L.C., and J, Carneiro. 2005. *Basic Histology: Text and Atlas*. 11st Edition. McGraw-Hill's Acces Medicine.
- Kementrian Pertanian Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Direktorat Kesehatan Hewan. 2014. *Manual Penyakit Unggas Catatan-2*. Jakarta.
- Kusmita, L. 2007. *Formulasi metode ekstraksi pigmen klorofil*. [Tesis]. Universitas Kristen Satya Wacana, Indonesia.
- Li K., G. R. Sun., X. T. Kang., C. L. Li., Z. H. Liu., M. Li., Y. C. Wang. 2008. Dynamic changes for cell proliferation in immune organs of Gushi chickens. *Chin J Vet Sci*. 8:953-956.
- Linna, T. J., R. Back., and E. Hemmingsson. 1971. *Lymphoid Cell Migration. Morphological and Functional Aspects Of Immunity* p. 149. Plenum Press, New York.

- Leopoldini, M., T. Marino., N. Russo and M. Toscano. 2004. *Antioxidant Properties of Phenolic Compounds: H-Atom versus Electron Transfer Mechanism*. UniVersita' della Calabria. Italy
- Ma'ruf, W, F., R. Ibrahim, E. N. Dewi., E. Susanto., U. Amalia. 2013. Profil Rumput Laut Caulerpa Racemosa Dan Gracilaria Verrucosa Sebagai Edible Food. *Jurnal Saintek Perikanan Vol. 9, No. 1, 2013 : 68-74*
- Montgomery, D., and S. Kowalsky. 2011. Design And Analysis of Experiment. *John Willey an Sains Inc*. ISBN 978-0-470-16990-2.
- Murtini, S., R. Murwani., F. Satrija. 2006. Penetapan Rute dan Dosis Inokulasi pada Telur Ayam Berembrio sebagai Media Uji Khasiat Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortiana*). *Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor JITV Vol. 11 No. 2.*
- Purwandari, Y., C. Kristianingrum., R. Tabbu., S. Sutrisno., Widyarini., Kurniasih., T. Untari., A. Kusumawati., 2015. *Deteksi Bovine Herpesvirus-1 Secara Immunohistokimia pada Membran Korioallantois Telur Ayam Berembrio*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Jl. Fauna No.2, Karangmalang, Yogyakarta 55281
- Ressang, AA. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. Edisi Kedua IFAD Project. Denpasar, Bali
- Roy, B, S., N. Joardar., I. Samanta., P. K. Dasl., A. Halder., S. Nandi. 2013. Molecular Characterization of Fowl Pox Virus Isolates from Backyard Poultry *Department of Veterinary Microbiology, Department of Veterinary Physiology; Faculty of Veterinary and Animal Sciences, West Bengal University of Animal and Fishery Sciences; P.O.–Belgachia, Kolkata–700037, India*
- Silva, P, S., T. Batinga., T. S. Herval., R. I. Maia., Fernandes. 2009. Fowlpox: Identification and Adoption of Prophylactic Measures in Backyard Chickens in Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Poultry Science*
- Sawale, G, K, S., N. V. Roshini., M. M. Chawak and G. S. Kinge. 2012. *Pathology of fowl pox in chickens*. Dapertement of Pathology, Bombay Veterinary college, Goregaon, Mumbai-12 PDRC Pune
- Saxena., Mamta., J. Saxena and A. Pradhan. 2012. Flavonoids And Phenolic Acids As Antioxidants In Plants And Human Health. *Department of chemistry, MVM College. India*

- Stahl, W., H. Sies. 2003. Antioxidant Activity of Carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*. 24, 345-351
- Tizard. 2000. *Veterinary Immunology*. An Introduction. 6th ed. WB Saunders Company. Philadelphia. Pp. : 26-34.
- Wibowo, M, H., W. Asmara. 2002. *Isolasi Dan Propagasi Agen Penyebab Penyakit Dari Kasus Terdiagnosa Penyakit Infectious Laryngotracheitis (ILT) Pada Telur Ayam Berembrio*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada, Sekip unit II, Yogyakarta 55281.
- Unitly, A, J, A., D. Elisabeth., Sahertian. 2010. Deteksi kandungan antioksidan superoksida dismutase (sod) pada organ ginjal tikus rattus norvegicus dengan pewarnaan imunohistokimia. *Journal Jurusan biologi fakultas mipa – universitas pattimura ambon*





Lampiran 1. Surat Keterangan Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 764-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : UJI POTENSI EKSTRAK PIGMEN KLOROFIL ANGgur LAUT (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI TINDAKAN PREVENTIF TERHADAP POX VIRUS SECARA IN VIVO

PENELITI : ISBIYA WHINONA

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

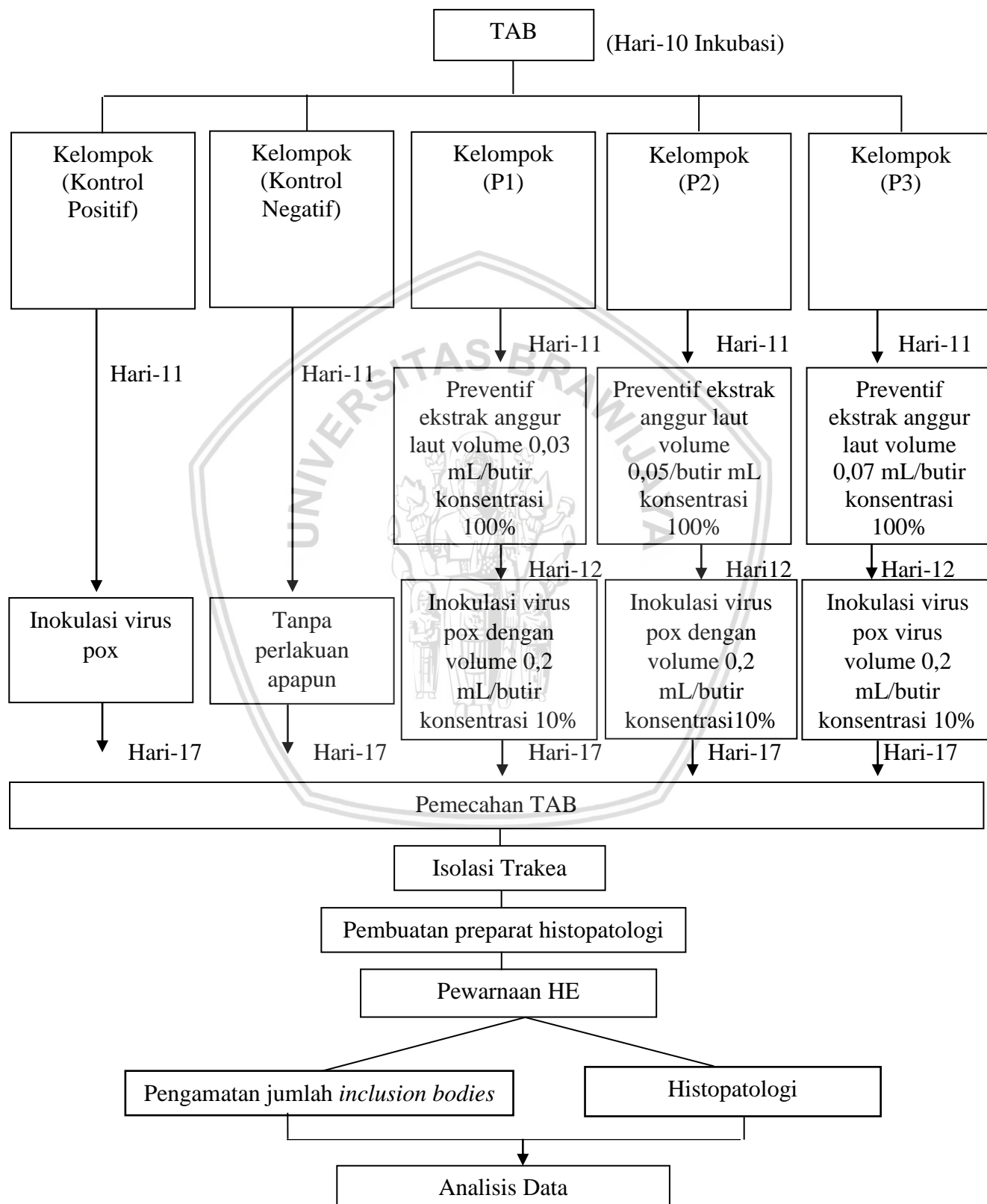
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 19 Mei 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

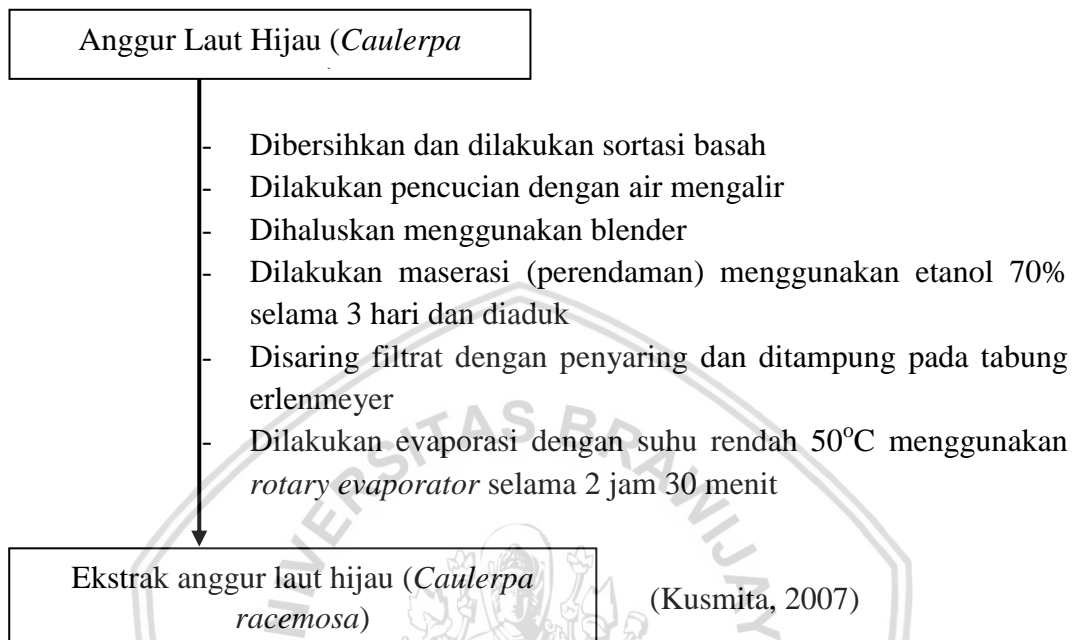


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 2. Kerangka Operasional Penelitian



Lampiran 3. Prosedur Pembuatan Ekstrak Anggur Laut Hijau(*Caulerpa racemosa*)



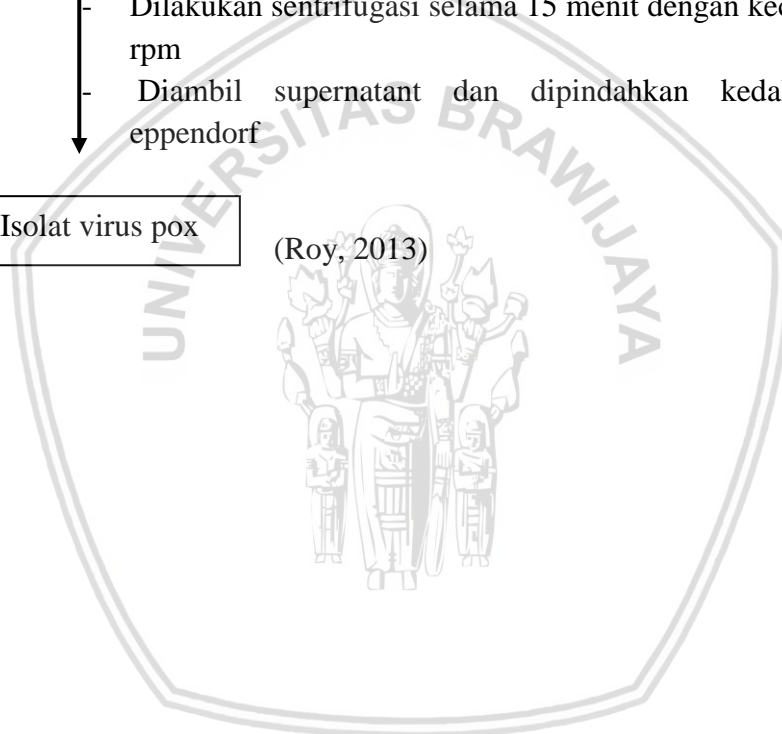
Lampiran 4. Pembuatan Isolat Virus Pox

Unggas Terinfeksi pox

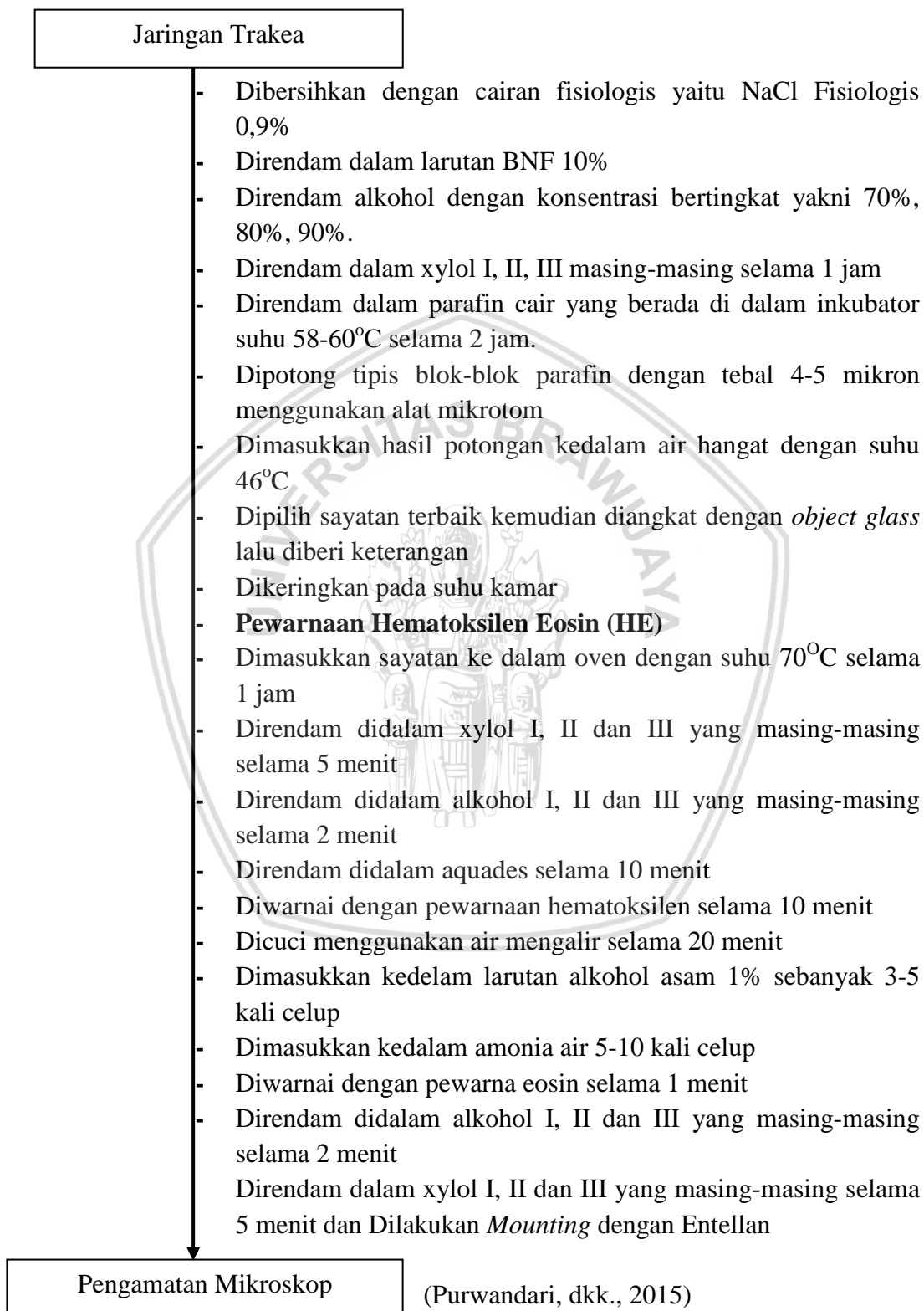
- Dikoleksi lesi pox 10g menggunakan gunting steril
- Digerus halus didalam mortar
- Ditambahkan larutan pengencer sebanyak 90 mL
- Ditambahkan antibiotic penicillin dan streptomycin sebanyak 1 mL
- Dimasukkan kedalam tabung falcon
- Dilakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm
- Diambil supernatant dan dipindahkan kedalam tabung eppendorf

Isolat virus pox

(Roy, 2013)



Lampiran 5. Pembuatan Preparat Histopatologi Trakea



Lampiran 6 Dokumentasi Kegiatan



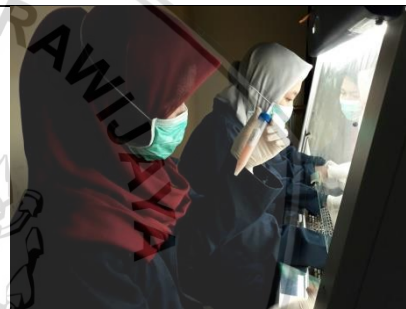
Contoh isolat lapang pada salah satu peternakan di Kota Blitar



Lesi pada daerah yang tidak ditumbuhi oleh bulu unggas



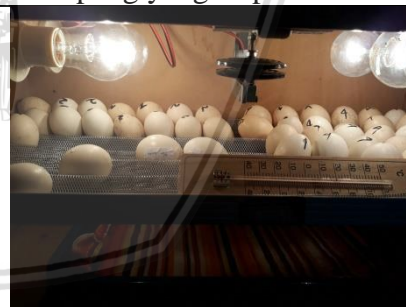
Pengambilan NaCl fisiologis



Isolat lapang yang siap diinokulasikan



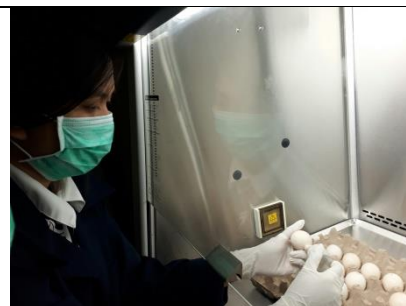
Proses nekropsi unggas yang terinfeksi pox



Inkubasi TAB



Alat dan Bahan



Proses pelubangan TAB



Pembelian TAB di Mojokerto



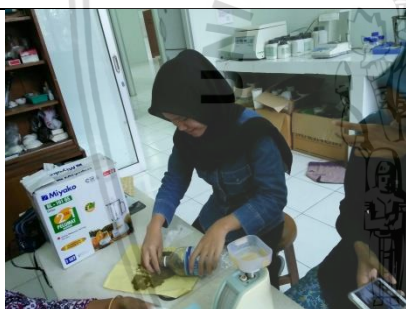
Proses pengamatan hasil



Diskusi



Nekropsi organ dalam unggas yang terinfeksi pox



Proses ekstraksi



Pembelian alat dan bahan



Proses Ekstraksi



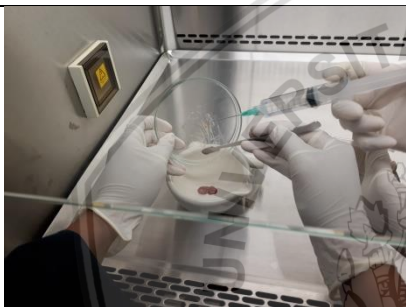
Hasil ekstraksi



Pengecekan kelembapan dan suhu inkubator agar tetap stabil



Proses autoclave



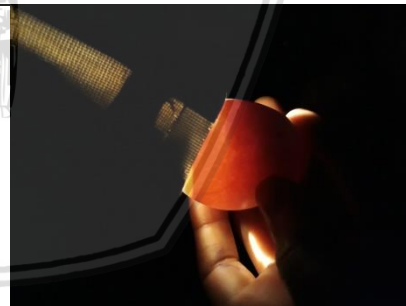
Pemberian NaCl fisiologis pada isolat



Proses penggerusan isolat lapang



Proses sentrifugasi isolat lapang



Proses *candling*



Pengerjaan dilakukan diruang BSC-2



Antibiotik Penstrep

Lampiran 7 Hasil Uji SPSS

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KLP
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0000
	Std. Deviation	1.45095
Most Extreme Differences	Absolute	.155
	Positive	.155
	Negative	-.155
Test Statistic		.155
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

Berdasarkan uji normalitas, maka dapat disimpulkan distribusi data bersifat normal, dikarenakan nilai sig. $0,2 > \alpha 0,05$ Data terdistribusi normal

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

NILAI				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2.625	4	15	.076	

Berdasarkan uji homogenitas sig. $0,076 > \alpha 0,05$ yang menandakan bahwa distribusi data homogen dan dapat dilanjutkan uji *one way* ANOVA

c. Uji ANOVA

ANOVA

NILAI					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	226.800	4	56.700	340.200	.000
Within Groups	2.500	15	.167		
Total	229.300	19			

Sig. $0,000 < 0,05$ H_0 ditolak, H_1 diterima sehingga dari penelitian didapatkan hasil adanya pengaruh preventif ekstrak anggur laut hijau (*Caulerpa racemosa*) terhadap TAB yang diinfeksi virus pox.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: NILAI

Tukey HSD

(I) KLP	(J) KLP	Mean Difference		Sig.	95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
k+	k-	9.00000*	.28868	.000	8.1086	9.8914
	p1	9.00000*	.28868	.000	8.1086	9.8914
	p2	7.50000*	.28868	.000	6.6086	8.3914
	p3	7.50000*	.28868	.000	6.6086	8.3914
k-	k+	-9.00000*	.28868	.000	-9.8914	-8.1086
	p1	.00000	.28868	1.000	-.8914	.8914
	p2	-1.50000*	.28868	.001	-2.3914	-.6086
	p3	-1.50000*	.28868	.001	-2.3914	-.6086
p1	k+	-9.00000*	.28868	.000	-9.8914	-8.1086
	k-	.00000	.28868	1.000	-.8914	.8914
	p2	-1.50000*	.28868	.001	-2.3914	-.6086
	p3	-1.50000*	.28868	.001	-2.3914	-.6086
p2	k+	-7.50000*	.28868	.000	-8.3914	-6.6086
	k-	1.50000*	.28868	.001	.6086	2.3914
	p1	1.50000*	.28868	.001	.6086	2.3914
	p3	.00000	.28868	1.000	-.8914	.8914
p3	k+	-7.50000*	.28868	.000	-8.3914	-6.6086
	k-	1.50000*	.28868	.001	.6086	2.3914
	p1	1.50000*	.28868	.001	.6086	2.3914
	p2	.00000	.28868	1.000	-.8914	.8914

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

NILAI

Tukey HSD^a

KLP	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
k-	4	.0000		
p1	4	.0000		
p2	4		1.5000	
p3	4		1.5000	
k+	4			9.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.